

Vorab per Fax: 39 Seiten - 2. Sendung bei erster Sendung mit einer Seite

**PCT****ANTRAG**

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)  
(max. 12 Zeichen) K 2779 - hu/msl**Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG**

Selektion von monoklonalen Antikörpern

**Feld Nr. II ANMELDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Deutsches Krebsforschungszentrum ✓  
Stiftung des öffentlichen Rechts  
Im Neuenheimer Feld 280  
D-69120 Heidelberg

DE

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten
**Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

BREITLING, Frank ✓  
Bergheimer Str. 123  
D-69120 Heidelberg

DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.
**Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT**

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

HUBER, Bernard  
Truderinger Str. 246  
81825 München

**HUBER & SCHÜSSLER**  
Patentanwälte - Patent Attorneys  
Truderinger Straße 246 - 81825 München  
Tel. 089/42 72 47 48 - Fax 089/42 72 47 49

Telefonnr.:

089 / 42724748

Telefaxnr.:

089 / 42724749

Fernschreibnr.:

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und stattdessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

Blatt Nr. ...2...

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER	
Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>POUSTKA, Annemarie ✓ Werderstr. 36 D-69120 Heidelberg DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>MOLDENHAUER, Gerhard ✓ Brückenstr. 41 D-69120 Heidelberg DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p>	

Blatt Nr. 3

**Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN**

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

**Regionales Patent**

- ☐ **AP** ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ **EA** Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP** Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA** OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben) .....

**Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> <b>AE</b> Vereinigte Arabische Emirate      | <input type="checkbox"/> <b>LR</b> Liberia  |
| <input type="checkbox"/> <b>AL</b> Albanien                          | <input type="checkbox"/> <b>LS</b> Lesotho  |
| <input type="checkbox"/> <b>AM</b> Armenien                          | <input type="checkbox"/> <b>LT</b> Litauen  |
| <input type="checkbox"/> <b>AT</b> Österreich                        | <input type="checkbox"/> <b>LU</b> Luxemburg  |
| <input type="checkbox"/> <b>AU</b> Australien                        | <input type="checkbox"/> <b>LV</b> Lettland   |
| <input type="checkbox"/> <b>AZ</b> Aserbaidschan                     | <input type="checkbox"/> <b>MD</b> Republik Moldau                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>BA</b> Bosnien-Herzegowina               | <input type="checkbox"/> <b>MG</b> Madagaskar   |
| <input type="checkbox"/> <b>BB</b> Barbados                          | <input type="checkbox"/> <b>MK</b> Die ehemalige jugoslawische Republik<br>Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> <b>BG</b> Bulgarien                         | <input type="checkbox"/> <b>MN</b> Mongolei   |
| <input type="checkbox"/> <b>BR</b> Brasilien                         | <input type="checkbox"/> <b>MW</b> Malawi   |
| <input type="checkbox"/> <b>BY</b> Belarus                           | <input type="checkbox"/> <b>MX</b> Mexiko   |
| <input type="checkbox"/> <b>CA</b> Kanada                            | <input type="checkbox"/> <b>NO</b> Norwegen   |
| <input type="checkbox"/> <b>CH und LI</b> Schweiz und Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> <b>NZ</b> Neuseeland   |
| <input type="checkbox"/> <b>CN</b> China                             | <input type="checkbox"/> <b>PL</b> Polen  |
| <input type="checkbox"/> <b>CU</b> Kuba                              | <input type="checkbox"/> <b>PT</b> Portugal   |
| <input type="checkbox"/> <b>CZ</b> Tschechische Republik             | <input type="checkbox"/> <b>RO</b> Rumänien   |
| <input type="checkbox"/> <b>DE</b> Deutschland                       | <input type="checkbox"/> <b>RU</b> Russische Föderation                               |
| <input type="checkbox"/> <b>DK</b> Dänemark                          | <input type="checkbox"/> <b>SD</b> Sudan  |
| <input type="checkbox"/> <b>EE</b> Estland                           | <input type="checkbox"/> <b>SE</b> Schweden   |
| <input type="checkbox"/> <b>ES</b> Spanien                           | <input type="checkbox"/> <b>SG</b> Singapur   |
| <input type="checkbox"/> <b>FI</b> Finnland                          | <input type="checkbox"/> <b>SI</b> Slowenien  |
| <input type="checkbox"/> <b>GB</b> Vereinigtes Königreich            | <input type="checkbox"/> <b>SK</b> Slowakei   |
| <input type="checkbox"/> <b>GD</b> Grenada                           | <input type="checkbox"/> <b>SL</b> Sierra Leone                                       |
| <input type="checkbox"/> <b>GE</b> Georgien                          | <input type="checkbox"/> <b>TJ</b> Tadschikistan                                      |
| <input type="checkbox"/> <b>GH</b> Ghana                             | <input type="checkbox"/> <b>TM</b> Turkmenistan                                       |
| <input type="checkbox"/> <b>GM</b> Gambia                            | <input type="checkbox"/> <b>TR</b> Türkei   |
| <input type="checkbox"/> <b>HR</b> Kroatien                          | <input type="checkbox"/> <b>TT</b> Trinidad und Tobago                                |
| <input type="checkbox"/> <b>HU</b> Ungarn                            | <input type="checkbox"/> <b>UA</b> Ukraine  |
| <input type="checkbox"/> <b>ID</b> Indonesien                        | <input type="checkbox"/> <b>UG</b> Uganda   |
| <input type="checkbox"/> <b>IL</b> Israel                            | <input checked="" type="checkbox"/> <b>US</b> Vereinigte Staaten von Amerika          |
| <input type="checkbox"/> <b>IN</b> Indien                            | <input type="checkbox"/> <b>UZ</b> Usbekistan   |
| <input type="checkbox"/> <b>IS</b> Island                            | <input type="checkbox"/> <b>VN</b> Vietnam  |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>JP</b> Japan                  | <input type="checkbox"/> <b>YU</b> Jugoslawien  |
| <input type="checkbox"/> <b>KE</b> Kenia                             | <input type="checkbox"/> <b>ZA</b> Südafrika  |
| <input type="checkbox"/> <b>KG</b> Kirgisistan                       | <input type="checkbox"/> <b>ZW</b> Simbabwe   |
| <input type="checkbox"/> <b>KP</b> Demokratische Volksrepublik Korea |   |
| <input type="checkbox"/> <b>KR</b> Republik Korea                    |   |
| <input type="checkbox"/> <b>KZ</b> Kasachstan                        |   |
| <input type="checkbox"/> <b>LC</b> Saint Lucia                       |   |
| <input type="checkbox"/> <b>LK</b> Sri Lanka                         |   |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

**Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen:** Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestätigungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Blatt Nr. 4

<b>Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH</b>					<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:			
		nationaler Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung: regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt	
Zeile (1) 11. Januar 1999 (11.01.99)	199 00 635.0	DE			
Zeile (2)					
Zeile (3)					
<input checked="" type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) <u>1</u> bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist). * Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedsstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.					
<b>Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE</b>					
Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):		Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):			
ISA / EPA		Datum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Staat (oder regionales Amt)	
<b>Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE</b>					
Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:		Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:			
Antrag : 4		1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung			
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 16		2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht			
Ansprüche : 3		3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):			
Zusammenfassung : 1		4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift			
Zeichnungen : 15		5. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:			
Sequenzprotokollteil der Beschreibung :		6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:			
Blattzahl insgesamt : 39		7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material			
		8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form			
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):		9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten): Kop.f.Priobel. / Scheck			
		Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird: deutsch			
<b>Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS</b>					
Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.					
München, 11. Januar 2000					
Dr. Bernhard Huber					

Vom Anmeldeamt auszufüllen

1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen:  <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:
--

8. Januar 2000

Unser Zeichen: K 2779 - hu / msl

### Selektion von monoklonalen Antikörpern

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern sowie hierfür verwendbare Mittel.

Die Herstellung von monoklonalen Antikörpern beruht auf einem von Köhler und Milstein entwickelten Verfahren. Nach diesem Verfahren werden B-Lymphozyten mit Myelomzellen fusioniert, wodurch Antikörper-produzierende Hybridomzellen erhalten werden. Ein solches Verfahren weist große Nachteile auf. Insbesondere ist es aufwendig Antikörper zu selektionieren, da dies eine getrennte Kultivierung von Hybridomzellen erfordert. Letzteres führt auch dazu, daß nur eine begrenzte Zahl von Hybridomzellen erfaßt und somit auch nicht alle Antikörper selektioniert werden können, was insbesondere nachteilig ist, wenn Antikörper mit höchster Affinität für ein Antigen selektioniert werden sollen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem monoklonale Antikörper hergestellt werden können, wobei vorstehende Nachteile vermieden werden.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

Die vorliegende Erfindung beruht auf den Erkenntnissen des Anmelders, daß monoklonale Antikörper auf der Zelloberfläche von Hybridomzellen mittels eines Antikörper-Bindeproteins präsentiert werden können. Er hat erkannt, daß hiermit monoklonale Antikörper selektioniert werden können, ohne daß Hybridomzellen getrennt kultiviert werden müssen. Auch hat er erkannt, daß die Selektion von monoklonalen Antikörpern sowohl gegenüber einem bestimmten als auch vielen (un)bestimmten Antigenen einer Antigen-Bibliothek erfolgen kann. Ferner hat er erkannt, daß die Selektion von monoklonalen Antikörpern auch hinsichtlich ihrer Affinitätsstärke zu bestimmten Antige-

8. Januar 2000

2

nen erfolgen kann.

Erfindungsgemäß werden die Erkenntnisse des Anmelders genutzt, ein Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern bereitzustellen. Ein solches Verfahren umfaßt die Fusionierung von B-Lymphozyten mit Myelomzellen zu Antikörper-produzierenden Hybridomzellen, wobei die Antikörper auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen mittels eines Antikörper-Bindeproteins präsentiert werden, und die Bindung der Antikörper an Antigene.

Der Ausdruck "B-Lymphozyten" umfaßt B-Lymphozyten jeglicher Art und Abstammung. Auch können es Vorstufen von B-Lymphozyten sein. Ferner können die B-Lymphozyten von Tieren, wie Mäusen, Ratten, Kaninchen, etc., oder dem Menschen stammen. Desweiteren können die B-Lymphozyten von einem gesunden oder kranken Organismus stammen. Günstig ist es, wenn sie von einem immunisierten Organismus stammen. Besonders günstig ist es, wenn die B-Lymphozyten für humane Antikörper oder Teile davon kodieren. Handelt es sich um B-Lymphozyten aus Tieren, ist dies erreichbar, indem die Tiere für die humanen Antikörper bzw. Teile davon transgen sind. Die Herstellung solcher Tiere kann durch übliche Verfahren erfolgen, wobei sich anbietet, die Gene für die humanen Antikörper die Teile davon in embryonale Stammzellen einzuführen, aus denen dann die Tiere generiert werden. Die Bereitstellung von B-Lymphozyten und ihren Vorstufen kann durch übliche Verfahren erfolgen.

Der Ausdruck "Myelomzellen" umfaßt Myelomzellen jeglicher Art und Abstammung. Auch können es Vorläufer von Myelomzellen sein. Ferner können die Myelomzellen von Tieren, wie Mäusen, Ratten, Kaninchen, etc., oder dem Menschen stammen. Bevorzugte Myelomzellen sind Abkömmlinge der Maus-Stämme P3K, P3-X63.Ag8, X63.Ag8.653, NSO/1, Sp2/O-Ag14 und FO, der Ratten-Stämme Y3-Ag1.2.3, YB2/0 und IR9834, und der menschlichen Stämme U266, SK007 und Karpas 707. Die Bereitstellung von Myelomzellen und ihren Vorstufen kann durch übliche Verfahren erfolgen.

8. Januar 2000

3

Der Ausdruck "Antikörper-produzierende Hybridomzellen" umfaßt Zellen, die durch Fusion von B-Lymphozyten und Myelomzellen entstehen und Antikörper produzieren. Es wird auf die Ausführungen hinsichtlich B-Lymphozyten und Myelomzellen entsprechend verwiesen. Hybridomzellen können tierische und/oder menschliche Nukleinsäuren bzw. Proteine aufweisen. Die Kultivierung von Hybridomzellen kann durch übliche Verfahren erfolgen. Ferner kann es günstig sein, wenn die Hybridomzellen Rekombinasen, z.B. Rag1 oder Rag2, und/oder Mutasen (über)exprimieren. Solches kann durch Transfektion der Hybridomzellen mit entsprechenden Expressionsvektoren erreicht werden. Der Fachmann kennt solche Expressionsvektoren.

Der Ausdruck "Fusion von B-Lymphozyten mit Myelomzellen" betrifft jegliches Verfahren, mit dem diese Zellen fusioniert werden können. Günstig ist ein Verfahren, bei dem die Zellen über Polyethylenglykol fusioniert werden. Es wird auf die Beispiele verwiesen.

Der Ausdruck "Bindung der Antikörper an Antigene" betrifft jegliches Verfahren, mit dem die auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen exprimierten Antikörper an Antigene binden können. Die Antigene können an Trägern, z.B. Magnetobeads, gebunden sein. Ferner können sie markiert, z.B. fluoreszenzmarkiert, sein. Als Fluoreszenzmarker bieten sich z.B. FITC, TRITC, Cy3, Cy5, Cy5.5, Cy7 und Phycoerythrin an. Desweiteren können die Antigene an Biotin gekoppelt sein. Gebundene Antigene können dann durch übliche Verfahren, z.B. FACS-Analyse, nachgewiesen werden, wodurch auch die entsprechenden Antikörper detektiert werden. Es wird auf die Beispiele verwiesen.

Der Ausdruck "Antikörper-Bindeprotein" umfaßt jegliches Protein, das einen Antikörper binden und an der Zelloberfläche von Hybridomzellen präsentieren kann. Insbesondere kann das Protein ein Signalpeptid, eine von der Spezifität des Antikörpers unabhängige Antikörper-Bindestelle und einen Membrananker aufweisen. Beispiele für ein solches Protein sind natürliche Fc-Bindeproteine, wie CD16, CD32 und CD64. Ferner kann das

8. Januar 2000

4

Protein eine Kombination aus einem Signalpeptid, einer Antikörper-Bindestelle und einem Membrananker aufweisen, die in der Natur nicht vorkommt. Eine solche Kombination kann Teile natürlicher Fc-Bindeproteine umfassen. Ferner kann sie als Signalpeptid ein solches einer Maus-Ig-Kappa-Kette oder eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, als Membrananker eine Transmembran-Domäne von PDGFR oder CD52 und als Antikörper-Bindestelle eine Antigen-Bindungsdomäne eines bakteriellen Proteins, wie Protein A, Protein G, Protein L oder Protein LG, aufweisen. Günstig kann es sein, wenn die Kombination mehrere Signalpeptide, Antikörper-Bindestellen und/oder Membrananker aufweist. Besonders günstig kann es sein, wenn das Antikörper-Bindeprotein, insbesondere die Antikörper-Bindungsdomäne der bakteriellen Proteine Codons aufweist, die für die Expression in Säugetierzellen optimiert sind. Der Fachmann weiß, um welche Codons es sich hier handelt.

Bevorzugte Antikörper-Bindeproteine sind in den Figuren 1-3 angegeben. Das Antikörper-Bindeprotein von Fig. 1 umfaßt das Signalpeptid eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, vier Antikörper-Bindungsdomänen des Proteins L und die Transmembran-Domäne von CD52. Die DNA- und Aminosäuresequenzen des Antikörper-Bindeproteins sind zwischen den Nukleotid-Nummern 682-1782 angegeben. Das Antikörper-Bindeprotein von Fig. 2 umfaßt das Signalpeptid einer Maus-Ig-Kappa-Kette, zwei Antikörper-Bindestellen des Proteins G und die Transmembran-Domäne von CD52. Die DNA- und Aminosäuresequenzen des Antikörper-Bindeproteins sind zwischen den Nukleotid-Nummern <sup>732</sup>~~647~~-1420 angegeben. Das Antikörper-Bindeprotein von Fig. 3 umfaßt das Signalpeptid des Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, zwei Antikörper-Bindestellen des Proteins G und die Transmembran-Domäne von PDGFR. Die DNA- und Aminosäuresequenzen des Antikörper-Bindeproteins sind zwischen den Nukleotid-Nummern 682-1431 angegeben. Die Antikörper-Bindestellen aller drei Antikörper-Bindeproteine weisen auf DNA-Ebene Codons auf, die für die Expression in Säugetierzellen optimiert sind.

Ein Antikörper-Bindeprotein der Figuren 1, 2 bzw. 3 kann eine



8. Januar 2000

5

Aminosäuresequenz aufweisen, die sich durch ein oder mehrere Aminosäuren von der Aminosäuresequenz in den Figuren 1, 2 bzw. 3 unterscheidet. Die Unterschiede können in Additionen, Deletionen, Substitutionen und/oder Inversionen von einzelnen Aminosäuren liegen. Allerdings hybridisiert die DNA dieses Antikörper-Bindeproteins mit der in den Figuren 1, 2 bzw. 3 angegebenen DNA. Der Ausdruck "Hybridisierung" weist auf eine Hybridisierung unter üblichen Bedingungen, insbesondere bei 20°C unter dem Schmelzpunkt der DNA, hin. Ferner weist das Antikörper-Bindeprotein mit der veränderten Aminosäuresequenz Gesamt- bzw. Teilfunktionen auf, die mit jenen des Antikörper-Bindeproteins der Figuren 1, 2 bzw. 3 vergleichbar sind.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Nukleinsäure, die für ein vorstehendes Antikörper-Bindeprotein kodiert. Die Nukleinsäure kann eine RNA oder eine DNA sein. Bevorzugt ist eine DNA, die folgendes umfaßt:

- (a) Die DNA eines Antikörper-Bindeproteins der Figuren 1, 2 bzw. 3, eine sich hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterscheidende DNA, oder
- (b) eine mit der DNA von (a) über den degenerierten genetischen Code verwandte DNA.

Der Ausdruck "eine sich durch ein oder mehrere Basenpaare unterscheidende DNA" umfaßt jegliche für ein Antikörper-Bindeprotein der Figuren 1, 2 bzw. 3 kodierende DNA, die mit der DNA der Fig. 1, 2 bzw. 3 hybridisiert. Die Unterschiede können in Additionen, Deletionen, Substitutionen und/oder Inversionen von einzelnen Basenpaaren liegen. Hinsichtlich des Ausdrucks "Hybridisierung" wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen.

Eine erfindungsgemäße DNA kann als solche oder in Kombination mit jeglicher anderen DNA vorliegen. Insbesondere kann eine erfindungsgemäße, für ein Antikörper-Bindeprotein kodierende DNA in einem Expressionsvektor vorliegen. Beispiele solcher sind dem Fachmann bekannt. Im Falle eines Expressionsvektors

8. Januar 2000

6

für E. coli sind dies z.B. pGEMEX, pUC-Derivate, pGEX-2T, pET3b und pQE-8. Für die Expression in Hefe sind z.B. pY100 und Ycpad1 zu nennen, während für die Expression in tierischen Zellen z.B. pKCR, pEFBOS, pCDM8 und pCEV4 anzugeben sind. Für die Expression in Insektenzellen eignet sich besonders der Baculovirus-Expressionsvektor pAcSGHisNT-A.

Der Fachmann weiß, in welcher Weise die erfindungsgemäße DNA in einen Expressionsvektor inseriert werden muß. Ihm ist auch bekannt, daß diese DNA in Verbindung mit einer für ein anderes Protein bzw. Peptid kodierenden DNA inseriert werden kann, so daß die erfindungsgemäße DNA in Form eines Fusionsproteins exprimiert werden kann.

Bevorzugte Expressionsvektoren, die eine erfindungsgemäße DNA enthalten, sind in den Figuren 1-3 angegeben. Es handelt sich um die Expressionsvektoren pSEX11L4, pSEX11G2<sup>+</sup> und pSEX15G2. Diese wurden bei der DSMZ (Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen) am 14. Dezember 1998 hinterlegt. Im einzelnen wurde pSEX11L4 unter DSM 12580, pSEX11G2<sup>+</sup> unter DSM 12581 und pSEX15G2 unter DSM 12582 hinterlegt.

Der Fachmann kennt geeignete Zellen, um die erfindungsgemäße, in einem Expressionsvektor vorliegende DNA zu exprimieren. Beispiele solcher Zellen umfassen die E.coli-Stämme XL-1 Blue, Top 10 F, HB101, DH5alpha, x1776, JM101, JM 109, BL21 und SG 13009, die Hefe-Stämme Saccharomyces cerevisiae und Pichia pastoris, die tierischen Zellen L, NIH 3T3, FM3A, CHO, COS, Vero, HeLa, Myelom- und Hybridomzellen sowie die Insektenzellen sf9.

Desweiteren kennt der Fachmann Bedingungen, transformierte bzw. transfizierter Zellen zu kultivieren. Auch sind ihm Verfahren bekannt, das durch die erfindungsgemäße DNA exprimierte Protein bzw. Fusionsprotein zu isolieren und zu reinigen.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein gegen ein vorstehendes Protein bzw. Fusionsprotein gerichteter

8. Januar 2000

7

Antikörper. Ein solcher Antikörper kann durch übliche Verfahren hergestellt werden. Er kann polyklonal bzw. monoklonal sein. Zu seiner Herstellung ist es günstig, Tiere, insbesondere Kaninchen oder Hühner für einen polyklonalen und Mäuse für einen monoklonalen Antikörper, mit einem vorstehenden (Fusions)protein oder Fragmenten davon zu immunisieren. Weitere "Booster" der Tiere können mit dem gleichen (Fusions)protein oder Fragmenten davon erfolgen. Der polyklonale Antikörper kann dann aus dem Serum bzw. Ei der Tiere erhalten werden. Für den monoklonalen Antikörper werden Milzzellen der Tiere mit Myelomzellen fusioniert.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit. Ein solcher umfaßt eine oder mehrere der folgenden Komponenten:

- (a) eine erfindungsgemäße DNA,
- (b) eine eine erfindungsgemäße DNA exprimierende Zelle,
- (c) ein erfindungsgemäßes Antikörper-Bindeprotein,
- (d) einen erfindungsgemäßen Antikörper, sowie
- (e) übliche Hilfsstoffe, wie Träger, Puffer, Lösungsmittel, Kontrollen, Marker, Nachweisreagentien für die Komponenten (a) - (d)

Von den einzelnen Komponenten können jeweils ein oder mehrere Vertreter vorliegen. Hinsichtlich der einzelnen Ausdrücke wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen. Diese gelten hier entsprechend.

Die vorliegende Erfindung zeichnet sich dadurch aus, daß von Hybridomzellen produzierte Antikörper auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen präsentiert werden. Dies erfolgt über ein Antikörper-Bindeprotein. Ein solches kann über die zur Herstellung der Hybridomzellen verwendeten Myelomzellen in die Hybridomzellen eingeführt werden. Ferner kann das Antikörper-Bindeprotein über einen es kodierenden Expressionsvektor in die Hybridomzellen eingeführt werden.

8. Januar 2000

8

Mit der vorliegenden Erfindung ist es möglich, Antikörper zu selektionieren. Dies kann ohne großen Aufwand erfolgen, da Hybridomzellen nicht getrennt kultiviert werden müssen. Vielmehr können komplexe Gemische von Hybridomzellen unmittelbar zur Selektion von Antikörpern verwendet werden. Ferner können Antikörper hinsichtlich ihrer Affinitätsstärke zu bestimmten Antigenen selektioniert werden. Desweiteren eignet sich die vorliegende Erfindung Antikörper von Hybridomzell-Bibliotheken nicht nur gegenüber einem bestimmten Antigen, sondern auch gegenüber vielen (un)bestimmten Antigenen von Antigen-Bibliotheken zu selektionieren.

Somit liefert die vorliegende Erfindung ein Mittel, mit dem u.a. die großen Zeit- und Kosten-Probleme vermieden werden können, die bei der Selektion von monoklonalen Antikörpern bisher auftraten.

#### Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Fig. 1 zeigt den erfindungsgemäßen Expressionsvektor pSEX11L4 (Fig. 1(A)), der für ein Antikörper-Bindeprotein kodiert (Fig. 1(B)). Es wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen.

Fig. 2 zeigt den erfindungsgemäßen Expressionsvektor pSEX11G2\* (Fig. 2(A)), der für ein Antikörper-Bindeprotein kodiert (Fig. 2(B)). Es wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen.

Fig. 3 zeigt den erfindungsgemäßen Expressionsvektor pSEX15G2 (Fig. 3(A)), der für ein Antikörper-Bindeprotein kodiert (Fig. 3(B)). Es wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen.

Die Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele erläutert.

8. Januar 2000

9

**Beispiel 1:** Herstellung von Myelomzellen, die ein Antikörper-Bindeprotein auf ihrer Zelloberfläche exprimieren.

**(A) Transiente Expression**

Es werden Zellen der Myelomzelllinie X63-Ag8.653 verwendet. Diese Zellen ( $10^7$ ) werden mit 20-40  $\mu\text{g}$  des erfindungsgemäßen Expressionsvektors pSEX11G2\* (vgl. Fig. 2) transfiziert. Als Transfektionstechnik wird eine Elektroporation durchgeführt, die zwei Pulse zu 2 ms bei 500 V umfaßt. Die Zellen werden 48 h in RPMI-Medium, das 10 % FCS enthält, bei 37°C und 5-7,5 %  $\text{CO}_2$  inkubiert. Danach werden die Zellen mit kaltem DPBS + 0.1 % Na-Azid gewaschen, bevor sie 45 min bei 0°C mit DPBS + 0.1 % Na-Azid plus 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Ziege anti-Kalb Antikörper (FITC markiert; GAB-FITC, Dianova) inkubiert werden. Nach Waschen mit DPBS + 0.1 % Na-Azid werden die Zellen in DPBS + 0.1 % Na-Azid + 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Propidium-Jodid inkubiert und nach Anregung mit Blaulicht einer FACS-Analyse unterzogen.

Es zeigt sich, daß die transfizierten Myelomzellen eine grüne Fluoreszenz aufweisen, die durch die transiente Expression eines Antikörper-Bindeproteins auf der Zelloberfläche der Myelomzellen bedingt ist.

**(B) Stabile Expression**

Die unter (A) erhaltenen Myelomzellen werden einer 14-24 täglichen G418-Selektion unterzogen, bevor sie, wie unter (A) beschrieben, mit GAB-FITC inkubiert und einer FACS-Analyse unterzogen werden. Myelomzellen, die eine starke grüne Fluoreszenz aufweisen, werden weiteren G418-Selektionsrunden unterzogen.

Es wird die Myelomzelllinie X63-Ag8.653.3 erhalten, die stabil ein Antikörper-Bindeprotein auf ihrer Zelloberfläche expri-

8. Januar 2000

10

miert.

**Beispiel 2: Herstellung von Hybridomzellen, die auf ihrer Zelloberfläche Antikörper mittels eines Antikörper-Bindeproteins exprimieren.**

**(A)**

Es werden 10 Balb/c-Mäuse subkutan mit je 100 µg abgetöteten *Helicobacter pylori* Bakterien in komplettem Freund'schen Adjuvans, das abgetötete *Mycobacter tuberculosis* Bakterien enthält, immunisiert. Nach 4 bzw. 7 Wochen erfolgt jeweils eine intraperitoneale Booster-Injektion mit 100µg abgetöteter *Helicobacter pylori*-/*Mycobacter tuberculosis*-Bakterien. Den Mäusen werden vor jeder Immunisierung bzw. nach der letzten Immunisierung jeweils 100 µl Blutserum entnommen und im Westernblot wird die Antigenspezifische Immunantwort der Maus überprüft. Als Antigen wird ein Aufschluß von bakteriellem Gesamtprotein von *Helicobacter pylori* bzw. *Mycobacter tuberculosis* verwendet. Der Nachweis gebundener Maus-Antikörper wird durch einen Peroxidase-konjugierten Ziege anti-Maus-Antikörper (Dianova) geführt. Mäusen mit einer deutlichen Antigen-spezifischen Immunantwort wird die Milz entnommen und die Lymphozyten werden mit Zellen der Myelomzelllinie X63-Ag8.653.3 von Beispiel 1 (B) fusioniert. Die Fusion erfolgt durch Polyethylenglykol (vgl. Goding, J.W., Cell Biology, Biochemistry and Immunology, 3. Auflage, (1996), Verlag Accademic Press Limited, 24-28). Es werden Hybridomzellen erhalten. Diese werden 10-12 Tage in HAT-Medium bei 37°C inkubiert. Es wird die Hybridomzell-Bibliothek 2A erhalten.

Es werden Hexapeptide mit N-terminalem Biotin synthetisiert. Die Peptide entsprechen den 6C-terminalen Aminosäuren von 101 bzw. 118 Genprodukten von *Helicobacter pylori* bzw. *Mycobacter tuberculosis*. Ferner werden 10<sup>3</sup> Zellen der Hybridomzell-Bibliothek 2A mit kaltem DPBS + 0,1 % Na-Azid gewaschen und 45 min bei 0°C mit DPBS + 0,1 % Na-Azid + 10µg/ml der vorstehenden Biotin-markierten Peptide inkubiert. Die Zellen werden mit

8. Januar 2000

11

kaltem DPBS + 0,1 % Na-Azid gewaschen und 45 min bei 0°C mit 10 µg/ml Streptavidin-FITC inkubiert. Nach Waschen mit DPBS + 0,1 % Na-Azid werden die Zellen in DPBS + 0,1 % Na-Azid + 1 µg/ml Propidium-Jodid inkubiert und nach Anregung mit Blaulicht einer FACS-Analyse unterzogen.

Es zeigt sich, daß die Hybridomzellen eine grüne Fluoreszenz aufweisen. Diese Fluoreszenz ist durch die Expression von Antikörpern auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen bedingt. Weiterführende Untersuchungen zeigen, daß die Antikörper eine anti-Helicobacter pylori- bzw. Mycobacter tuberculosis-Aktivität aufweisen.

(B)

Es werden Zellen der Hybridomzelllinie U98/6, die einen Maus-anti-Urokinase-Antikörper produzieren, verwendet. Diese Zellen ( $10^7$ ) werden mit 20-40 µg des erfindungsgemäßen Expressionsvektors pSEX11G2\* (vgl. Fig. 2) transfiziert. Als Transfektionstechnik wird eine Elektroporation durchgeführt, die zwei Pulse zu 2 ms bei 400 V umfaßt. Die Zellen werden 48 h in inkomplettem AIM V-Medium bei 37°C und 5-7,5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Danach werden die Zellen mit kaltem DPBS + 0,1 % Na-Azid gewaschen, bevor sie 45 min bei 0°C mit DPBS + 0,1 % Na-Azid + 10 µg/ml Urokinase-Biotin inkubiert werden. Nach Waschen mit DPBS + 0,1 % Na-Azid werden die Zellen in DPBS + 0,1 % Na-Azid + 10 µg/ml Streptavidin-FITC inkubiert und nach Anregung mit Blaulicht einer FACS-Analyse unterzogen.

Es zeigt sich, daß die transfizierten Hybridomzellen eine grüne Fluoreszenz aufweisen. Diese Fluoreszenz ist durch die Expression von Antikörpern auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen bedingt. Weiterführende Untersuchungen zeigen, daß die Antikörper eine anti-Urokinase-Aktivität aufweisen.

Die erhaltenen Hybridomzellen werden einer 14-24 tägigen G418-Selektion unterzogen, bevor sie erneut, wie vorstehend be-

8. Januar 2000

12

schrieben mit Urokinase-Biotin und Streptavidin-FICS inkubiert und einer FACS-Analyse unterzogen werden. Hybridomzellen, die eine starke grüne Fluoreszenz aufweisen, werden weiteren G418-Selektionsrunden unterzogen.

Es wird die Hybridomzelllinie U98/6.3.3 erhalten, die stabil Antikörper auf ihrer Zelloberfläche exprimiert.

**Beispiel 3:** Selektion von monoklonalen Antikörpern, die mittels eines Antikörper-Bindeproteins auf der Zelloberfläche von Hybridomzellen exprimiert werden.

$10^3$  Zellen der Hybridomzelllinie U98/6.3.3 von Beispiel 2 (B) werden mit  $10^7$  Zellen der Hybridomzelllinie DOB.L1.3 gemischt. Letztere Hybridomzelllinie produziert einen den C-Terminus der humanen HLA-DO- $\beta$ -Kette erkennenden Antikörper. Dieser wird mittels des gleichen Antikörper-Bindeproteins wie in der Hybridomzelllinie U98/6.3.3 von Beispiel 2 (B) auf der Zelloberfläche exprimiert. Das Zellgemisch wird mit kaltem DPBS + 0,1 % Na-Azid gewaschen und 45 min bei 0°C mit DPBS + 0,1 % Na-Azid + 10  $\mu$ g/ml Urokinase-Biotin inkubiert. Nach Waschen mit DPBS + 0,1 % Na-Azid wird das Zellgemisch in DPBS + 0,1 % Na-Azid + 10  $\mu$ g/ml Streptavidin-FITC inkubiert und nach Anregung mit Blaulicht in einen FACS-Sorter gegeben.

Es werden Hybridomzellen mit grüner Fluoreszenz selektioniert. In weiterführenden Untersuchungen zeigen diese eine anti-Urokinase-Aktivität. Es werden die Hybridomzelllinien U98/6.3.3 S1-S50 erhalten.

**Beispiel 4:** Herstellung und Reinigung eines erfindungsgemäßen Antikörper-Bindeproteins

(A)

Die DNA von Fig. 1 zwischen den Nukleotid-Nummern 682-1782 wird mit BAMHI-Linkern versehen, mit BamHI nachgespalten und



8. Januar 2000

13

in den mit BamHI gespaltenen Expressionsvektors pQE-8 (Qiagen) inseriert. Es wird das Expressionsplasmid pQE-8/Antikörper-Bindeprotein erhalten. Ein solches kodiert für ein Fusionsprotein aus 6 Histidin-Resten (N-Terminuspartner) und dem erfindungsgemäßen Antikörper-Bindeprotein von Fig. 1 (C-Terminuspartner). pQE-8/Antikörper-Bindeprotein wird zur Transformation von E.coli SG 13009 (vgl. Gottesman, S. et al., J. Bacteriol. 148, (1981), 265-273) verwendet. Die Bakterien werden in einem LB-Medium mit 100 µg/ml Ampicillin und 25 µg/ml Kanamycin kultiviert und 4 h mit 60 µM Isopropyl-β-D-Thiogalactopyranosid (IPTG) induziert. Durch Zugabe von 6 M Guanidinhydrochlorid wird eine Lyse der Bakterien erreicht, anschließend wird mit dem Lysat eine Chromatographie (Ni-NTA-Resin) in Gegenwart von 8 M Harnstoff entsprechend der Angaben des Herstellers (Qiagen) des Chromatographie-Materials durchgeführt. Das gebundene Fusionsprotein wird in einem Puffer mit pH 3,5 eluiert. Nach seiner Neutralisierung wird das Fusionsprotein einer 18 % SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unterworfen und mit Coomassie-Blau angefärbt (vgl. Thomas, J.O. und Kornberg, R.D., J.Mol.Biol. 149 (1975), 709-733).

Es zeigt sich, daß ein erfindungsgemäßes Antikörper-Bindeprotein (Fusionsprotein) in hochreiner Form hergestellt werden kann.

**(B)**

10<sup>6</sup> Zellen der in Beispiel 1 (B) erhaltenen Myelomzelllinie X63-Ag8.653.3 werden mit PBS gewaschen, in PBS + 1 % Tween 20 aufgenommen und auf Eis inkubiert. Partikuläre Zellbestandteile werden durch Zentrifugation bei 30.000g abgetrennt und der Überstand wird auf eine IgG Sepharose Säule (IgG Sepharose 6 Fast Flow Lab Pack von Pharmacia) gegeben. Ungebundene Bestandteile werden durch Waschen entfernt und das erfindungsgemäße Antikörper-Bindeprotein wird in saurem pH eluiert.

Nach seiner Neutralisierung wird das Antikörper-Bindeprotein

8. Januar 2000

14

einer 18 % SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unterworfen und mit Coomassie-Blau angefärbt (vgl. vorstehend).

Es zeigte sich, daß ein erfindungsgemäßes Antikörper-Bindeprotein (Fusionsprotein) in hochreiner Form hergestellt werden kann.

**Beispiel 5: Herstellung und Nachweis eines erfindungsgemäßen Antikörpers**

Ein erfindungsgemäßes Fusionsprotein von Beispiel 4 wird einer 18 % SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unterzogen. Nach Anfärbung des Gels mit 4 M Natriumacetat wird eine ca. 41 kD Bande aus dem Gel herausgeschnitten und in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung inkubiert. Gel-Stücke werden sedimentiert, bevor die Proteinkonzentration des Überstandes durch eine SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, der eine Coomassie-Blau-Färbung folgt, bestimmt wird. Mit dem Gel-gereinigten Fusionsprotein werden Tiere wie folgt immunisiert:

**Immunisierungsprotokoll für polyklonale Antikörper im Kaninchen**

Pro Immunisierung werden 35 µg gereinigtes Fusionsprotein in 0,7 ml PBS und 0,7 ml komplettem bzw. inkomplettem Freund's Adjuvans eingesetzt.

- |         |   |
|---------|---|
| Tag 0:  | 1. Immunisierung (komplettes Freund's Adjuvans)         |
| Tag 14: | 2. Immunisierung (inkomplettes Freund's Adjuvans; icFA) |
| Tag 28: | 3. Immunisierung (icFA)                                 |
| Tag 56: | 4. Immunisierung (icFA)                                 |
| Tag 80: | Ausbluten   |

Das Serum des Kaninchens wird im Immunoblot getestet. Hierzu wird ein erfindungsgemäßes Fusionsprotein von Beispiel 4 einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese unterzogen und auf ein Nitrocellulosefilter übertragen (vgl. Khyse-Andersen, J., J.

8. Januar 2000

15

Biochem. Biophys. Meth. 10, (1984), 203-209). Die Western Blot-Analyse wurde wie in Bock, C.-T. et al., Virus Genes 8, (1994), 215-229, beschrieben, durchgeführt. Hierzu wird das Nitrocellulosefilter eine Stunde bei 37°C mit einem ersten Antikörper inkubiert. Dieser Antikörper ist das Serum des Kaninchens (1:10000 in PBS). Nach mehreren Waschschritten mit PBS wird das Nitrocellulosefilter mit einem zweiten Antikörper inkubiert. Dieser Antikörper ist ein mit alkalischer Phosphatase gekoppelter monoklonaler Ziege Anti-Kaninchen-IgG-Antikörper (Dianova) (1:5000) in PBS. Nach 30-minütiger Inkubation bei 37°C folgen mehrere Waschschriffe mit PBS und anschließend die alkalische Phosphatase-Nachweisreaktion mit Entwicklerlösung (36µM 5' Bromo-4-chloro-3-indolylphosphat, 400µM Nitroblau-tetrazolium, 100mM Tris-HCl, pH 9.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>) bei Raumtemperatur, bis Banden sichtbar werden.

Es zeigt sich, daß erfindungsgemäße, polyklonale Antikörper hergestellt werden können.

#### **Immunisierungsprotokoll für polyklonale Antikörper im Huhn**

Pro Immunisierung werden 40µg gereinigtes Fusionsprotein in 0,8 ml PBS und 0,8 ml komplettem bzw. inkomplettem Freund's Adjuvans eingesetzt.

- Tag 0: 1. Immunisierung (komplettes Freund's Adjuvans)
- Tag 28: 2. Immunisierung (inkomplettes Freund's Adjuvans; icFA)
- Tag 50: 3. Immunisierung (icFA)

Aus Eigelb werden Antikörper extrahiert und im Western Blot getestet. Es werden erfindungsgemäße, polyklonale Antikörper nachgewiesen.

#### **Immunisierungsprotokoll für monoklonale Antikörper der Maus**

8. Januar 2000

16

Pro Immunisierung werden 12µg gereinigtes Fusionsprotein in 0,25 ml PBS und 0,25 ml komplettem bzw. inkomplettem Freund's Adjuvans eingesetzt; bei der 4. Immunisierung ist das Fusionsprotein in 0,5 ml (ohne Adjuvans) gelöst.

Tag 0: 1. Immunisierung (komplettes Freund's Adjuvans)  
Tag 28: 2. Immunisierung (inkomplettes Freund's Adjuvans;  
icFA)  
Tag 56: 3. Immunisierung (icFA)  
Tag 84: 4. Immunisierung (PBS)  
Tag 87: Fusion

Überstände von Hybridomen werden im Western Blot getestet.  
Erfindungsgemäße, monoklonale Antikörper werden nachgewiesen.

8. Januar 2000

17

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern, umfassend die Fusion von B-Lymphozyten mit Myelomzellen zu Antikörper-produzierenden Hybridomzellen, wobei die Antikörper auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen mittels eines Antikörper-Bindeproteins präsentiert werden, und die Bindung der Antikörper an Antigene.  
5
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Antikörper-Bindeprotein ein Signalpeptid, eine von der Spezifität des Antikörpers unabhängige Antikörper-Bindestelle und einen Membrananker umfaßt.  
10
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein ein Fc-Bindeprotein oder Teile davon umfaßt.  
15
4. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus Fc-Bindeproteinen oder Teilen davon umfaßt.
- 20 5. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, wobei das Fc-Bindeprotein CD16, CD32 oder CD64 ist.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 - 5, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Antikörper-Bindungsdomäne der Proteine A, G, L oder LG umfaßt.  
25
7. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus dem Signalpeptid einer Maus-Ig-Kappa-Kette oder eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, einer Antikörper-Bindestelle der Proteine A, G, L oder LG und der Transmembran-Domäne von PDGFR oder CD52 umfaßt.  
30
8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das Antikörper-Bindeprotein jenes von Fig. 1, Fig. 2 oder Fig. 3 ist.  
35

8. Januar 2000

18

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-8, wobei die Hybridomzellen Rag1 und/oder Rag2 (über)exprimieren.
- 5 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-9, wobei die Antigene von einer Antigen-Bibliothek stammen.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-10, wobei die Antigene an einen Träger gebunden sind.
- 10 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei der Träger Magnetobeads umfaßt.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-10, wobei die Antigene eine Fluoreszenz- oder Biotinmarkierung umfassen.
- 15 14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die Fluoreszenzmarkierung FITC, TRITC, Cy3, Cy5, Cy5.5, Cy7 und Phycoerythrin umfaßt.
- 20 15. Antikörper-Bindeprotein, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus dem Signalpeptid einer Maus-Ig-Kappa-Kette oder eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, einer Antikörper-Bindestelle der Proteine A, G, L oder LG und der Transmembran-Domäne von PDGFR oder CD52 umfaßt.
- 25 16. Antikörper-Bindeprotein nach Anspruch 15, wobei das Antikörper-Bindeprotein die Aminosäuresequenz von Fig. 1, Fig. 2 bzw. Fig. 3 oder eine hiervon durch ein oder mehrere Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuresequenz umfaßt.
- 30 17. DNA, kodierend für das Antikörper-Bindeprotein nach Anspruch 16, umfassend:
- 35 (a) die DNA eines Antikörper-Bindeproteins der Figuren 1, 2 bzw. 3, eine sich hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterscheidende DNA, oder
- (b) eine mit der DNA von (a) über den degenerierten Code

8. Januar 2000

19

verwandte DNA.

18. Expressionsvektor, kodierend für die DNA nach Anspruch  
17.

5

19. Zellen, enthaltend den Expressionsvektor nach Anspruch  
18.

10

20. Antikörper, gerichtet gegen das Antikörper-Bindeprotein  
nach Anspruch 15 oder 16.

8. Januar 2000

20

**Zusammenfassung**

5

**Selektion von monoklonalen Antikörpern**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern, umfassend die Fusion von B-Lymphozyten mit Myelomzellen zu Antikörper-produzierenden Hybridomzellen, wobei die Antikörper auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen mittels eines Antikörper-Bindeproteins präsentiert werden, und die Bindung der Antikörper an Antigene. Ferner betrifft die Erfindung hierfür verwendbare Mittel.



1/18

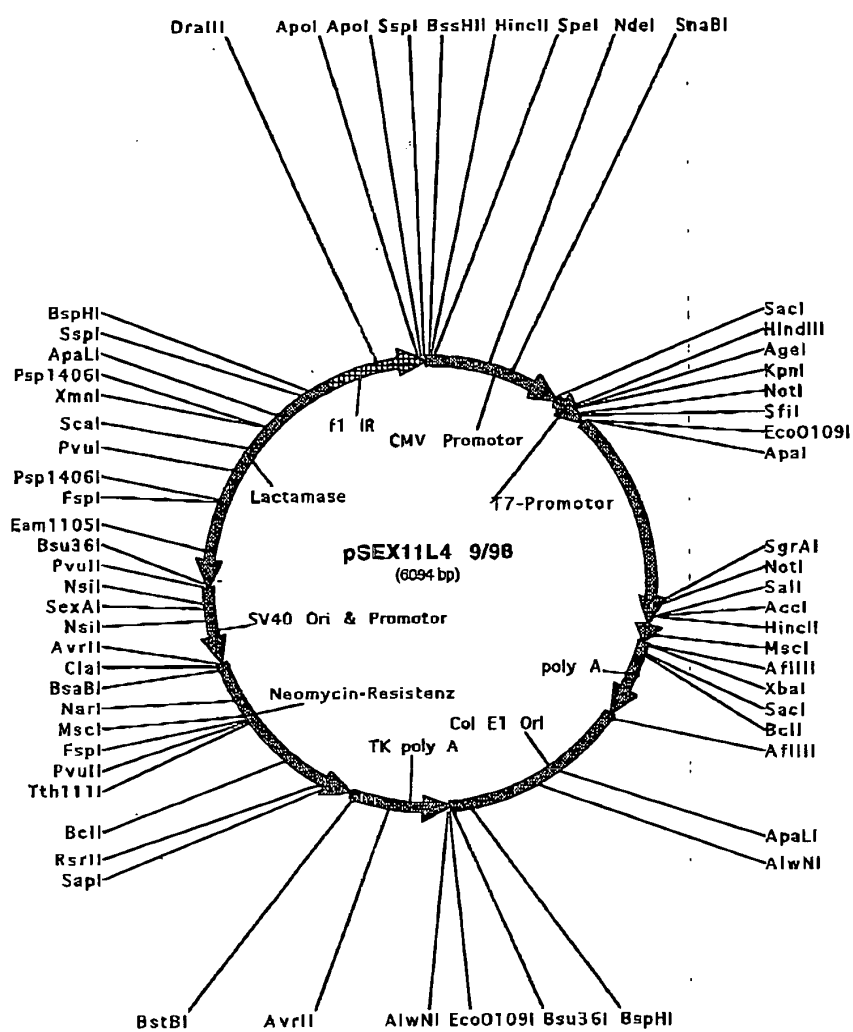


Fig. 1

1/18

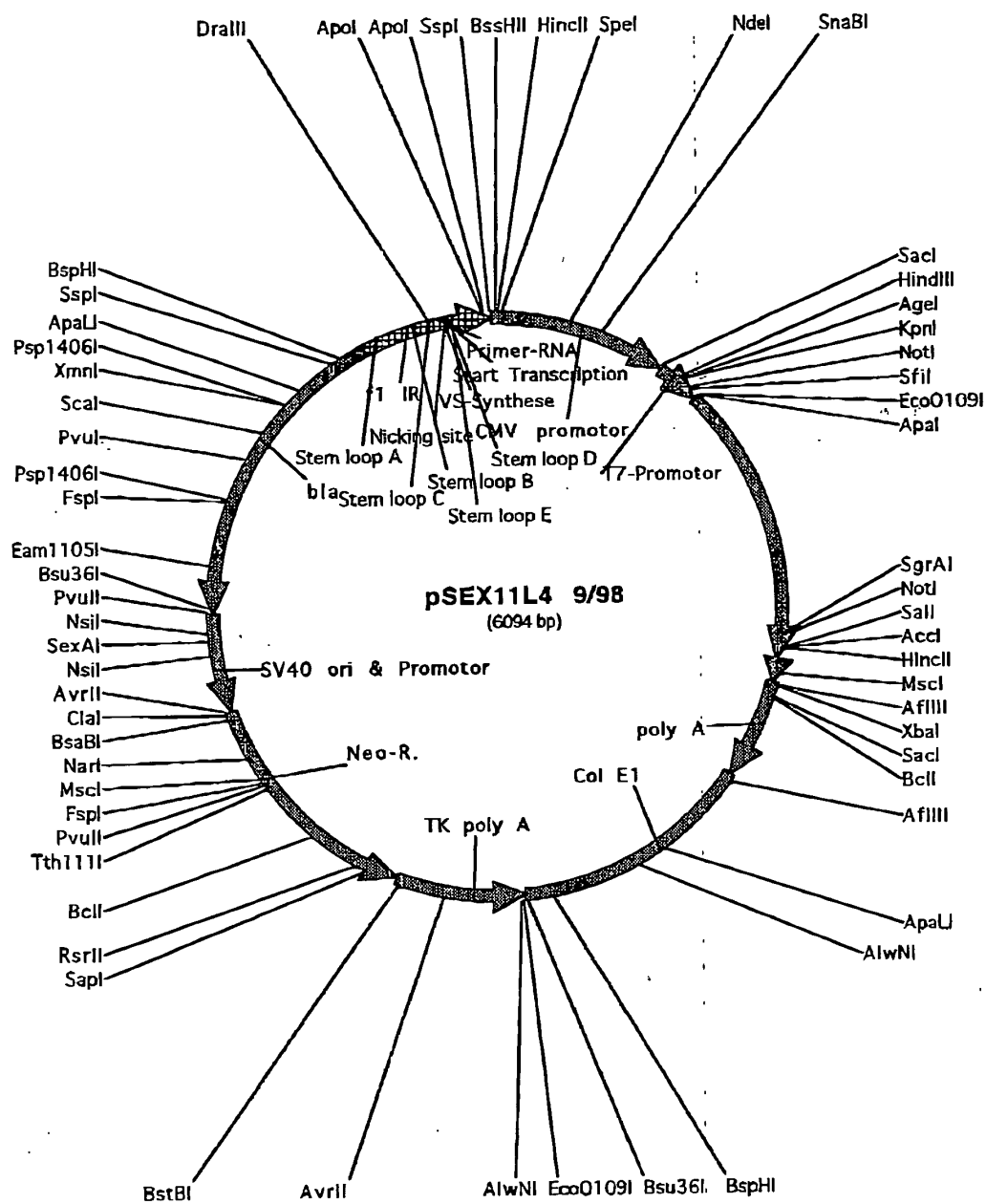


Fig. 1

2/18

BssHII HincII SpeI  
 1 CGCGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA  
 60 GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGG  
 119 CTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAA  
 178 CGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCAC  
 NdeI  
 237 TTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG  
 CMV promotor  
 296 TAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTCTACTTGGC  
 SnaBI  
 355 AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATC  
 414 AATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCAGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCATTGACGT  
 473 CAATGGGAGTTTGTGGTGGCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAAC  
 SacI  
 532 CCGCCCCATTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGA  
 T7-Promotor  
 591 GCTCTCTGGCTAACTAGAGAACCCACTGCTTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCA  
 Agel  
 650 CTATAGGGAGACCAAGCTTGGTACCGGTGCGATGGCACCCCTGCATGCTGCTCCTGCTG  
 1 MetAlaProCysMetLeuLeuLeuLeu  
 SfiI Apal  
 709 TTGGCGGCGCCCTGGCCCCGACTCAGACCCGCGCGGGGCCAAAGGAGAAGACCCC  
 109 LeuAlaAlaLeuAlaProThrGlnThrArgAlaGlyAlaGlnLysGluLysThrPro  
 768 CGAGGAGCCCAAGGAGGAGGTGACCATCAAGGCCAACCTGATCTACGCCGACGGCAAGA  
 299 oGluGluProLysGluGluValThrIleLysAlaAsnLeuIleTyrAlaAspGlyLysT  
 827 CCCAGACCGCGAGTTCAGGGCACCTTCGAGGAGGCCACCGCGGAGGCTACCGGTAC  
 499 hrGlnThrAlaGluPheLysGlyThrPheGluGluAlaThrAlaGluAlaTyrArgTyr  
 886 GCCGACGCCCTGAAGAAGGACAACGGCGAGTACACCGTGGACGTGGCCGACAAGGCTA  
 699 AlaAspAlaLeuLysLysAspAsnGlyGluTyrThrValAspValAlaAspLysGlyTy  
 945 CACCTGAACATCAAGTTCGCCGGCAAGGAGAAGACCCCGAGGAGCCCAAGGAGGAGG  
 889 rThrLeuAsnIleLysPheAlaGlyLysGluLysThrProGluGluProLysGluGluVal  
 1004 TGACCATCAAGGCCAACCTGATCTACGCCGACGGCAAGACCCAGACCGCCGAGTTCAAG  
 1089 alThrIleLysAlaAsnLeuIleTyrAlaAspGlyLysThrGlnThrAlaGluPheLys  
 1063 GGCACCTTCGAGGAGGCCACCGCGGAGGCTACCGTACGCCGACGCCCTGAAGAAGGA  
 1289 GlyThrPheGluGluAlaThrAlaGluAlaTyrArgTyrAlaAspAlaLeuLysLysAs  
 1122 CAACGGCGAGTACACCGTGGACGTGGCGACAAGGGCTACACCTGAACATCAAGTTCG  
 1479 AsnGlyGluTyrThrValAspValAlaAspLysGlyTyrThrLeuAsnIleLysPheAl  
 1181 CCGGCAAGGAGAAGACCCCGAGGAGCCCAAGGAGGAGGTGACCATCAAGGCCAACCTG  
 1679 laGlyLysGluLysThrProGluGluProLysGluGluValThrIleLysAlaAsnLeu  
 1240 ATCTACGCCGACGGCAAGACCCAGACCGCGAGTTCAAGGGCACCTTCGAGGAGGCCAC  
 1879 IleTyrAlaAspGlyLysThrGlnThrAlaGluPheLysGlyThrPheGluGluAlaTh  
 1299 CGCGGAGGCTACCGTACGCCGACGCCCTGAAGAAGGACAACGGCGAGTACACCGTGG  
 2069 rAlaGluAlaTyrArgTyrAlaAspAlaLeuLysLysAspAsnGlyGluTyrThrValA  
 1358 ACGTGGCCGACAAGGGCTACACCTGAACATCAAGTTCGCCGGCAAGGAGAAGACCCCC  
 2269 spValAlaAspLysGlyTyrThrLeuAsnIleLysPheAlaGlyLysGluLysThrPro

Fig. 1 (Forts. 1)

3/18

1417 GAGGAGCCCAAGGAGGAGGTGACCATCAAGGCCAACCTGATCTACGCCGACGGCAAGAC  
246▶ GluGluProLysGluGluValThrIleLysAlaAsnLeuIleTyrAlaAspGlyLysTh  
1476 CCAGACCGCCGAGTTCAAGGGCACCTTCGAGGAGGCCACCGCGGAGGCTACCGCTACG  
265▶ rGlnThrAlaGluPheLysGlyThrPheGluGluAlaThrAlaGluAlaTyrArgTyrA  
1535 CCGACGCCCTGAAGAAGGACAACGGCGAGTACACCGTGGACGTGGCCGACAAGGGCTAC  
285▶ IAspAlaLeuLysLysAspAsnGlyGluTyrThrValAspValAlaAspLysGlyTyr  
SgrAI NotI  
1594 ACCCTGAACATCAAGTTCGCCGGCGGGCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAAGAGGA  
305▶ ThrLeuAsnIleLysPheAlaGlyAlaAlaGluGlnLysLeuIleSerGluGluAs  
Sall  
HincII  
AclI  
1653 TCTGAATGGGCGCTCGACGGACAAAACGACACCAGCCAAACAGCAGCCCTCAGCAT  
324▶ pLeuAsnGlyAlaValAspGlyGlnAsnAspThrSerGlnThrSerSerProSerAlaS  
MscI  
1712 CCAGCAACATAAGCGGAGGCATTTTCCTTTCTTCGTGGCCAATGCCATAATCCACCTC  
344▶ erSerAsnIleSerGlyGlyIlePheLeuPhePheValAlaAsnAlaIleIleHisLeu  
AflIII XbaI SacI  
1771 TTCTGCTTCAGTTGAGGTGACACGTCTAGAGCTATTCTATAGTGTCACCTAAATGCTAG  
364▶ PheCysPheSer ●●●  
BclI  
1830 AGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTT  
poly A  
1889 CCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCTAATAAAAT  
1948 GAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGG  
2007 GCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGG  
2066 GCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAGAACCAAGTGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATC  
AflIII  
2125 AGGGGATAACGCAGGAAAGACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTA  
2184 AAAAGGCCGCTTGTGCGCTTTTTCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAA  
2243 AATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACGAGCTATAAAGATACGAGGCGTT  
2302 TCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCTGTTCCGACCTGCCGCTTACGGATACC  
2361 TGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTAT  
ApaLI  
2420 CTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTCA  
Col E1  
2479 GCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACG  
AlwNI  
2538 ACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGC  
2597 GGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATT  
2656 TGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGAT  
2715 CCGGCAACAAACCCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACG  
2774 CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTCTACGGGTCTGACGCTCA

Fig. 1 (Forts. 2)

4/18

2833 GTGGAAACGAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCA  
 2892 CCTAGATCCTTTTAAATTAATAAAGTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAA  
 Eco0109I  
 Bsu36I AlwNI  
 2951 CCTGAGGCTATGGCAGGGCCTGCCGCCCCGACGTTGGCTGCGAGCCCTGGGCCCTTCAAC  
 3010 CGAACTTGGGGGTGGGGTGGGAAAAGGAAGAAACGCGGGCGTATTGGCCCAATGGG  
 3069 GTCTCGGTGGGTATCGACAGAGTGCCAGCCCTGGGACCGAACCCGCGTTTATGAACA  
 TK poly A  
 3128 AACGACCCAACACCGTGCCTTTTATTCTGTCTTTTATTGCCGTCATAGCGCGGTTC  
 AvrII  
 3187 TTCCGGTATTGTCTCTTCCGTGTTTCAGTTAGCCTCCCCCTAGGGTGGGCGAAGAACT  
 3246 CCAGCATGAGATCCCCGCGCTGGAGGATCATCCAGCCGGCGTCCGGGAAACGATTCCG  
 3305 AAGCCCAACCTTTCATAGAAGCGGCGGTGGAATCGAATCTCGTGATGCGAGGTTGGG  
 BstBI  
 3364 CGTCGCTTGGTCGGTCATTTCGAACCCAGAGTCCCGCTCAGAAGAACTGGTCAAGAAG  
 2634 \*\*\*PhePheGluAspLeuLeu  
 3423 GCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGGGAGCGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGC  
 2564 ArgTyrPheAlaIleArgGlnSerAspProAlaAlaIleGlyTyrLeuValLeuPheAr  
 SspI  
 3482 GGTGAGCCCATTCGCCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCACGCTATGTCC  
 2364 gAspAlaTrpGluGlyGlyLeuGluGluAlaIleAspArgThrAlaLeuAlaIleAspG  
 RsrII  
 3541 TGATAGCGGTCCGCCACCCAGCCGCGCCACAGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCATT  
 2164 InTyrArgAspAlaValGlyLeuArgGlyCysAspIlePheGlySerPheArgGlyAsn  
 3600 TTCCACCATGATATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCCTCGCCGT  
 1974 GluValMetIleAsnProLeuCysAlaAspGlyHisThrValValLeuAspGluGlyAs  
 3659 CGGGCATGCTCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTTCGGCTGGCGCGAGCCCTGATGCTCT  
 1774 pProMetSerAlaLysLeuArgAlaPheLeuGluAlaProAlaLeuGlyGlnHisGluG  
 BclI  
 3718 TGATCATCTGATCGACAAGACCGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGCTCGATGCGATG  
 1574 InAspAspGlnAspValLeuGlyAlaGluMetArgThrArgAlaArgGluIleArgHis  
 3777 TTTCGCTTGGTGGTCGAATGGGCGAGGTAGCCGGATCAAGCGTATGACGCCCGCCATTG  
 1384 LysAlaGlnHisAspPheProCysThrAlaProAspLeuThrHisLeuArgArgMetAl  
 3836 CATCAGCCATGATGGTACTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGGAGATCCTGC  
 1184 aAspAlaMetIleSerValLysGluAlaProAlaLeuHisSerSerLeuLeuAspGlnG  
 Thr111I Pvull  
 3895 CCCGGCACTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCGCTTCAGTGACAACGTGAGCAC  
 984 IyProValGluGlyLeuLeuLeuTrpAspArgGlyAlaGluThrValValAspLeuVal  
 Neo-R.  
 FspI MscI  
 3954 AGCTGCGCAAGGAACGCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCTCGTCTTGCA  
 794 AlaAlaCysProValGlyThrThrAlaLeuTrpSerLeuArgAlaAlaGluAspGlnLe  
 NarI  
 4013 GTTCATTAGGGCACCGGACAGGTCGGTCTTGACAAAAGAACCGGGCGCCCTGCGCT  
 594 uGluAsnLeuAlaGlySerLeuAspThrLysValPheLeuValProArgGlyGlnAlaS  
 4072 GACAGCCGGAACACGGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCAGTCATAGCC  
 394 erLeuArgPheValAlaAlaAspSerCysGlyIleThrGlnGlnAlaTrpAspTyrGly  
 4131 GAATAGCCTCTCCACCAAGCGCCGAGAACCTGCGTGCAATCCATCTTGTTCATCA  
 204 PheLeuArgGluValTrpAlaAlaProSerGlyAlaHisLeuGlyAspGlnGluIleMe  
 BsaBI ClaI AvrII  
 4190 TGGAAACGATCCTCATCTCTCTTGATCGATCTTTGCAAAAGCCTAGGCCTCCAA  
 04t  
 4249 AAAGCCTCCTCACTACTTCTGGAATAGCTCAGAGCCGAGGAGGCGGCTCGGCCTCTG  
 4308 CATAAATAAAAAAATTAGTCAGCCATGGGGCGGAGAATGGGCGGAACCTGGGCGGAGTT

Fig. 1 (Forts. 3)

5/18

SV40 ori & Promotor NsiI  
 4367 AGGGGCGGGATGGGCGGAGTTAGGGCGGGACTATGGTTGCTGACTAATTGAGATGCAT

SexAI  
 4426 GCTTTGCATACTTCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTCCACACCTGGTTGCTGACT

NsiI  
 4485 AATTGAGATGCATGCTTTCATACCTTCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTCCACAC

PvuII Bsu36I  
 4544 CCTAACTGACACACATTCCACAGCTGGTTCTTCCGCTCAGGACTCTTCCTTTTCA

2874 •••TrpHisLysIleLeu  
 Eam110SI  
 4662 GTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTCCATAGTTGCGTGACTCCCC  
 2814uSerAlaGlyIleGluAlaIleGlnArgAsnArgGluAspMetThrAlaGlnSerGlyT  
 4721 GTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGAT  
 2614hrThrTyrIleValValIleArgSerProLysGlyAspProGlyLeuAlaAlaIleIle  
 4780 ACCGCGAGACCCACGCTCACCAGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAGGCAGCCGGAA  
 2424GlyArgSerGlyArgGluGlyAlaGlySerLysAspAlaIlePheTrpGlyAlaProLe  
 4839 GGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGT  
 2224uAlaSerArgLeuLeuProGlyAlaValLysAspAlaGluMetTrpAspIleLeuGlnG  
 FspI Psp1406I  
 4898 TGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTGCGCAGTTAATAGTTTGGCAACGTTGTTGCCAT  
 2024InArgSerAlaLeuThrLeuLeuGluGlyThrLeuLeuLysArgLeuThrThrAlaMet  
 4957 TGCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTGGTATGGCTTCATTACGCTCCGGTT  
 1834AlaValProMetThrThrAspArgGluAspAsnProIleAlaGluAsnLeuGluProGlu  
 5016 CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGTTAGCTCC  
 1634uTrpArgAspLeuArgThrValHisAspGlyMetAsnHisLeuPheAlaThrLeuGluL  
 PvuI  
 5075 TTCGGTCTCCGATCGTTGTGCAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTAT  
 1434ysProGlyGlyIleThrThrLeuLeuLeuAsnAlaAlaThrAsnAspSerMetThrIle  
 bla  
 5134 GGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTATGCCATCCGTAAGATGCTTTCTGTGACTG  
 1244AlaAlaSerCysLeuGluArgValThrMetGlyAspThrLeuHisLysGluThrValPr  
 Scal  
 5193 GTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGC  
 1044uSerTyrGluValLeuAspAsnGlnSerTyrHisIleArgArgGlyLeuGlnGluGlnG  
 5252 CCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAAGTTAAAAGTGCTCATCAT  
 844IyAlaAspIleArgSerLeuValAlaGlyCysLeuLeuValLysPheThrSerMetMet  
 Psp1406I  
 5311 TGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACCCTGTTGAGATCCAGTT  
 654ProPheArgGluGluProArgPheSerGluLeuIleLysGlySerAsnLeuAspLeuGlu  
 ApaLI  
 5370 CGATGTAACCACTCGTGACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTACTTTTACCAGCGTT  
 4544uIleTyrGlyValArgAlaGlyLeuGlnAspGluAlaAspLysValLysValLeuThrG  
 5429 TCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGACACG  
 2544uProHisAlaPheValProLeuCysPheAlaAlaPhePheProIleLeuAlaValArg  
 SspI  
 5488 GAAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGT  
 64PheHisGlnIleSerMet  
 BspHI  
 5547 ATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGT  
 5606 CCGCGCATTTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGAGCGGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGC

Stem loop A  
 5665 GGGGGGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCG

Fig. 1 (Forts. 4)

6/18

5724 CTCCTTCGCTTCTTCCTTCCTTTCTGCCACGTTGCCGGCTTCCCCGTCAAGCT  
—

5783 CTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTCCGATTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCAA  
—  
f1 IR Stem loop B

5842 AAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTC  
—  
Dralll Stem loop C Primer-RNA

5901 GCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACA  
—  
Start Transcription  
VS-Synthese Nicking site Stem loop D Stem loop E

5960 ACACTCAACCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTCGGC  
—

6019 CTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCGAATTTTAACAAAATAT  
—  
ApoI ApoI SspI

6078 TAACGCTTACAATTTAC  
—

Fig. 1 (Forts. 5)

7/18

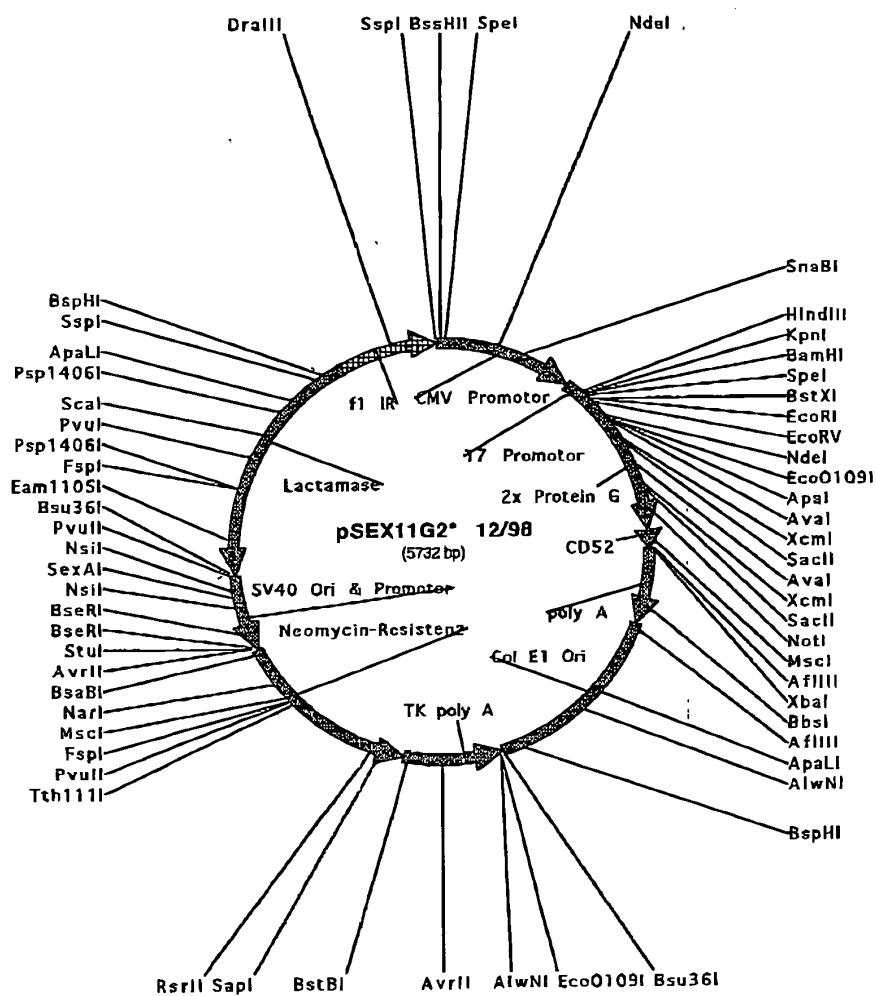


Fig. 2



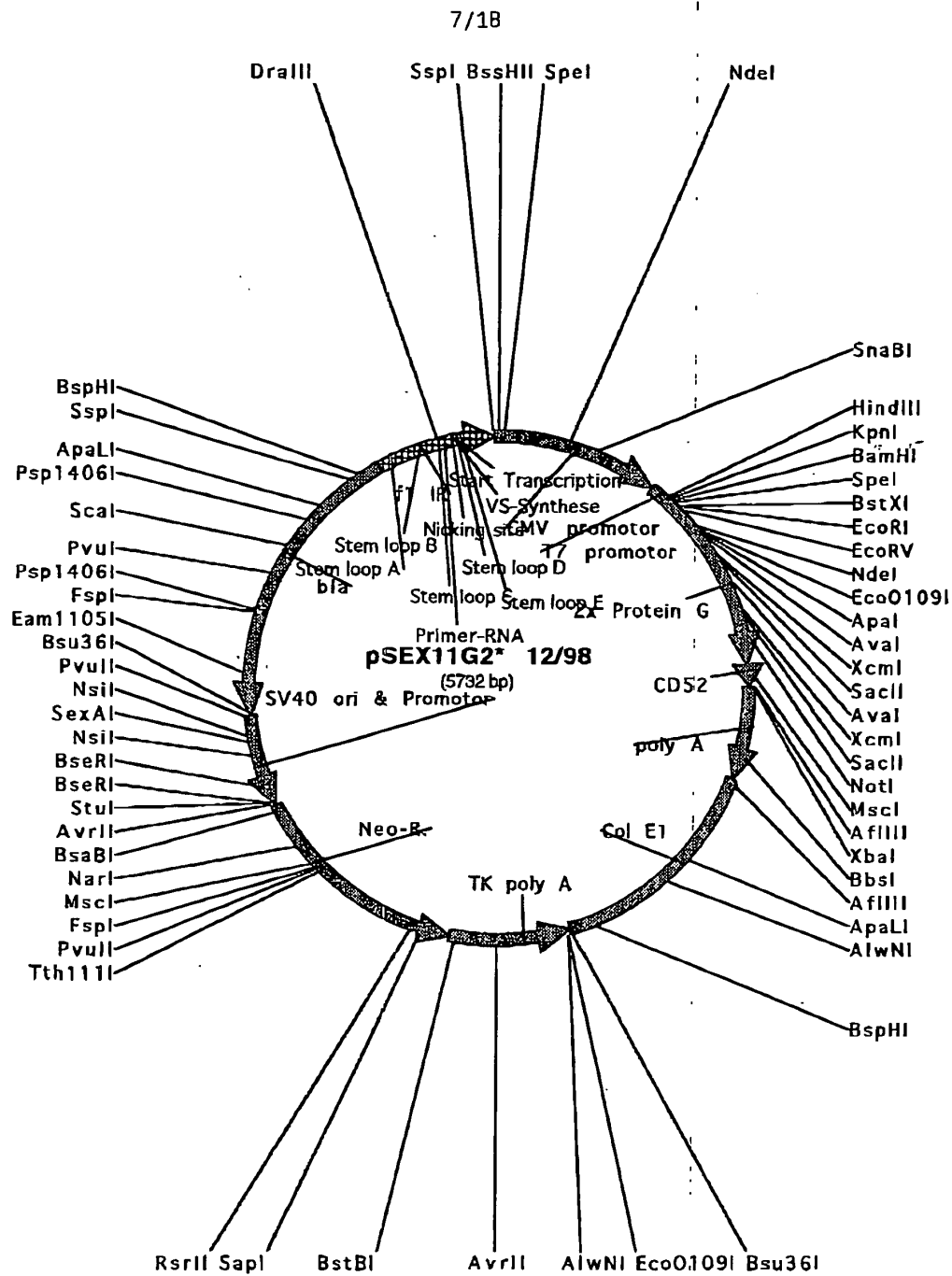


Fig. 2

8/18

BssHII                      SpeI  
 1 GCGCGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGT  
 55 CATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATG  
 109 GCGCGCCTGGCTGACGCGCCAACGACCCCGCCCATGACGTCAATAATGACGT  
 163 ATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGACT  
 NdeI  
 217 ATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGATCATATGCCAAGTA  
 CMV promotor  
 271 CGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGT  
 SnaBI  
 325 ACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCG  
 379 CTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGT  
 433 TTGACTCAGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGT  
 487 TTTGGCACAAAATCAACGGGACTTTCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCAT  
 541 TGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTC  
 T7 promotor  
 595 TCTGGCTAACTAGAGAACCCTGCTTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTC  
 HindIII KpnI                      BamHI SpeI                      BstXI  
 649 ACTATAGGGAGACCCAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCACTAGTAACGGCCGC  
 EcoRI                      EcoRV  
 703 CAGTGTGCTGGAATTCGGCTTGGGGATATCCACCATGGAGACAGACACTCCT  
 1 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu  
 NdeI  
 757 GCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTATCCATATGA  
 79 uLeu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly Asp Tyr Pro Tyr As  
 ApaI  
 EcoO109I                      Aval  
 811 TGTTCAGATTATGCTGGGGCCAAAAGCCCGAGGTGATCGATGCCAGCGAGCT  
 25 pVal Pro Asp Tyr Ala Glu Ala Glu nLys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Le  
 865 GACCCCGCCGTGACCACCTACAAGCTAGTGATCAACGGCAAGACCTGAAGGG  
 43 uThr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gl  
 XcmI                      SacII  
 919 CGAGACCACACCGAGGCGGTGGACGCGCCACCGCGGAGAAGGTGTTCAAACA  
 61 y Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe Lys Gl  
 973 ATACGCTAATGACAACGGGTGCGACGGCGAGTGGAATTACGACGACGCCACCAA  
 79 nTyr Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Glu Glu Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys  
 Aval  
 2x Protein G  
 1027 GACCTTACCCTGACCGAGAAGCCCGAGGTGATCGATGCCAGCGAGCTGACCCC  
 97 sThr Phe Thr Val Thr Glu Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pr

Fig. 2 (Forts. 1)

9/18

1081 CGCCGTGACCACCTACAAGCTAGTGATCAACGGCAAGACCCTGAAGGGCGAGAC  
 115 ▶ aAlaValThrThrTyrLysLeuVallleAsnGlyLysThrLeuLysGlyGluTh

XcmI SacII  
 1135 CACCACCGAGGCCGTGGACGCCGCCACCGGGAAGGTGTTCAAACAATACGC  
 133 ▶ rThrThrGluAlaValAspAlaAlaThrAlaGluLysValPheLysGlnTyrAl  
 1189 TAATGACAACGGGTCGACGGCGAGTGGACTTACGACGACGCCACCAAGACCTT  
 151 ▶ aAsnAspAsnGlyValAspGlyGluTrpThrTyrAspAspAlaThrLysThrPh

NotI  
 1243 CACCGTGACCGAGGCGGCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAA  
 169 ▶ eThrValThrGluAlaAlaAlaGluGlnLysLeulleSerGluGluAspLeuAs

1297 TGGGGCGTCGACGGACAAAACGACACCAACCAACGACGCCCCCTCAGCATC  
 187 ▶ nGlyAlaValAspGlyGlnAsnAspThrSerGlnThrSerSerProSerAlaSe

CD52 MscI  
 1351 CAGCAACATAAGCGGAGGCATTTTCCTTTCTTCGTGGCCAATGCCATAATCCA  
 205 ▶ rSerAsnilleSerGlyGlyllePheLeuPhePheValAlaAsnAlallelleHI

AfIIIIXbaI  
 1405 CCTCTTCTGCTTCAGTTGAGGTGACACGTCTAGAGCTATTCTATAGTGTCACCT  
 223 ▶ sLeuPheCysPheSer \*\*\*

1459 AAATGCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATC

1513 TGTTGTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCAC

poly A  
 1567 TGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCA

BbsI  
 1621 TTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGA  
 1675 CAATAGCAGGCATGCTGGGGATCGCGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAG

1729 AACCACTGGCGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGA  
 AfIII  
 1783 ACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCTTGC

1837 TGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAGAAAATCGACGCT

1891 CAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGEGTTTCCCC

1945 CTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCTGCCGCTTACCGGATACC

1999 TGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAGCTGTA

ApaLI  
 2053 GGTATCTCAGTTCGGTGAGGTCGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAAC

Col E1  
 2107 CCCCCGTTACGCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCA

AlwNI  
 2161 ACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTA  
 2215 GCAGAGCGAGGTATGTAGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACT

2269 ACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTA

2323 CCTTCGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAACAAACCAACCGCTGGTA

Fig. 2 (Forts. 2)



11/18

BseRI BseRI  
 3889 AGCCTCCTCACTACTTCTGGAATAGCTCAGAGGCCGAGGCGGCCTCGGCCT  
 CTGCATAAATAAAAAAATTAGTCAGCCATGGGGCGGAGAATGGGCGGAACCTGG  
 SV40 ori & Promotor  
 3997 GCGGAGTTAGGGGCGGGATGGGCGGAGTTAGGGGCGGACTATGGTTGCTGACT  
 NsiI  
 4051 AATTGAGATGCATGCTTTGCATACTTCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTC  
 SexAI NsiI  
 4105 CACACCTGGTTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCATACTTCTGCCTGCTG  
 PvuII  
 4159 GGGAGCCTGGGGACTTTCCACACCCTAACTGACACACATTCACAGCTGGTTCT  
 Bsu36I  
 4213 TTCCGCCTCAGGACTCTTCTTTTCAATAAATCAATCTAAAGTATATATGAGT  
 4267 AAACCTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGA  
 2874...TrpHisLysIleLeuSerAlaGlyIleGluAlaIle  
 Eam1105I  
 4321 TCTGTCTATTTCTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTA  
 2744eGlnArgAsnArgGluAspMetThrAlaGlnSerGlyThrThrTyrIleValVal  
 4375 CGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACGCGAGACC  
 2564IleArgSerProLysGlyAspProGlyLeuAlaAlaIleIleGlyArgSerGly  
 4429 CACGCTCACCGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCG  
 2384ArgGluGlyAlaGlySerLysAspAlaIlePheTrpGlyAlaProLeuAlaSer  
 4483 AGCGCAGAAGTGGTCTGCAACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGTT  
 2204rArgLeuLeuProGlyAlaValLysAspAlaGluMetTrpAspIleLeuGlnGly  
 FspI Psp1406I  
 4537 GCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCACACGTTGTTG  
 2024nArgSerAlaLeuThrLeuLeuGluGlyThrLeuLeuLysArgLeuThrThrAla  
 4591 CCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTGGTATGGGTTTATTCA  
 1844aMetAlaValProMetThrThrAspArgGluAspAsnProIleAlaGluAsnLeu  
 4645 GCTCCGGTTCACACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAA  
 1664uGluProGluTrpArgAspLeuArgThrValHisAspGlyMetAsnHisLeuPh  
 PvuI  
 4699 AAGCGGTAGCTCCTTCGGTCTCCGATCGTTGTGAGAAGTAAGTTGGCCGAG  
 1484eAlaThrLeuGluLysProGlyGlyIleThrThrLeuLeuLeuAsnAlaAlaThr  
 4753 TGTTATCACTCATGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCAT  
 1304rAsnAspSerMetThrIleAlaAlaSerCysLeuGluArgValThrMetGlyAs  
 bla Scal  
 4807 CCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAAGTCAACCAAGTCATTCTGAGAAT  
 1124pThrLeuHisLysGluThrValProSerTyrGluValLeuAspAsnGlnSerTy  
 4861 AGTGATGCGGCGAGGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCG  
 944rHisIleArgArgGlyLeuGlnGluGlyAlaAspIleArgSerLeuValAla  
 Psp1406I  
 4915 CGCCACATAGCAGAACTTTAAAGTGCTCATCATTGGAACGTTCTTCGGGGC  
 764aGlyCysLeuLeuValLysPheThrSerMetMetProPheArgGluGluProAla  
 4969 GAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAAACCACTC  
 584gPheSerGluLeuIleLysGlySerAsnLeuAspLeuGluIleTyrGlyValArg  
 ApaLI  
 5023 GTGCACCAACTGATCTTCAGCATCTTTACTTTACCAAGCGTTTCTGGGTGAG  
 404gAlaGlyLeuGluAspGluAlaAspLysValLysValLeuThrGluProHisAla  
 5077 CAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGAAAT  
 224aPheValProLeuCysPheAlaAlaPhePheProIleLeuAlaValArgPheHis  
 SspI  
 5131 GTTGAATACTCATACTCTTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTT  
 44sGlnIleSerMet  
 BspHI  
 5185 ATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTAGAAAAATAAACAAATAG

Fig. 2 (Forts. 4)

12/18

5239 GGGTTCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGCGCCCTGTAGCGGGG

5293 CATTAAGCGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCA

5347 GCGCCCTAGCGCCCGTCCCTTTCGGTTTCTTCCCTTCTCGCCACGTTG

5401 CCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGTCCCTTTAGGGTCCGATTTA

5455 GTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTA

5509 GTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAGTCCACGT

5563 TCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAACTGGAACAACACTCAACCTATCTCGG

5617 TCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTCGGCCTATTGGTTAAAAA

5671 ATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAAACGCTTA

5725 CAATTAC

Stem loop A

f1 IR Stem loop B

Dralll

Stem loop C Primer-RNA Start Transcription VS-Synthese

Nicking site Stem loop D Stem loop E

SspI

Fig. 2 (Forts. 5)

13/18

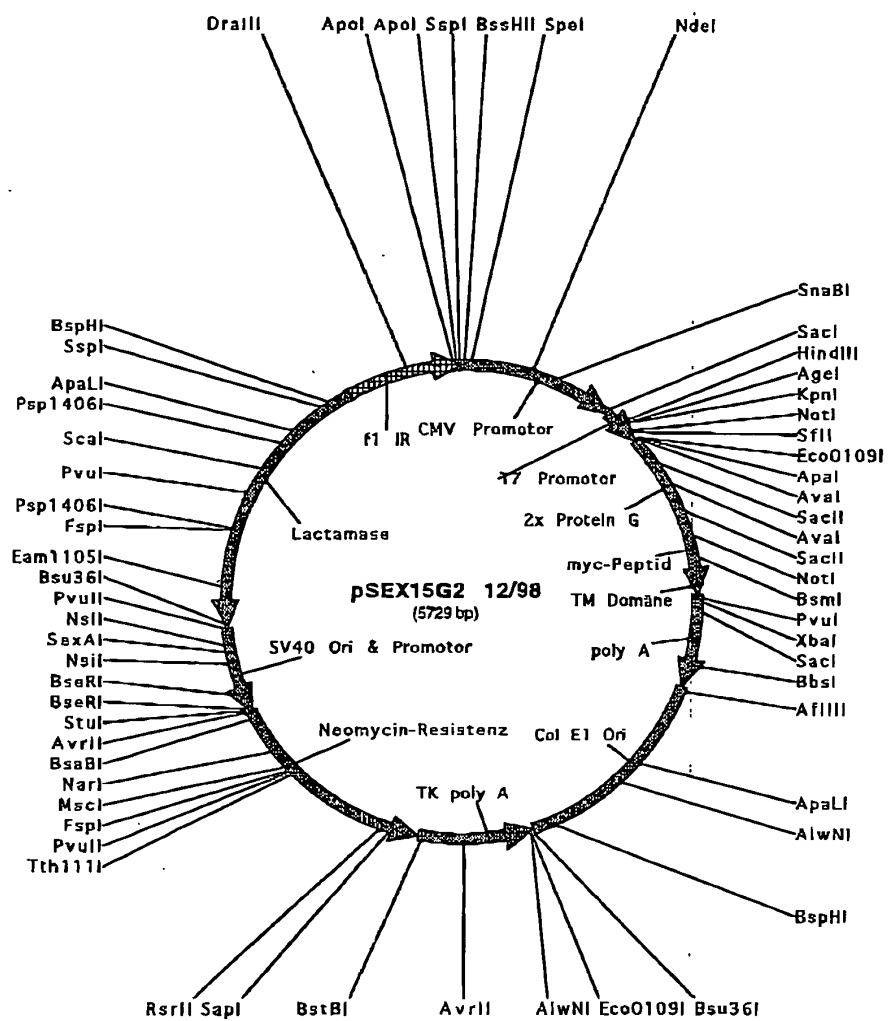


Fig. 3

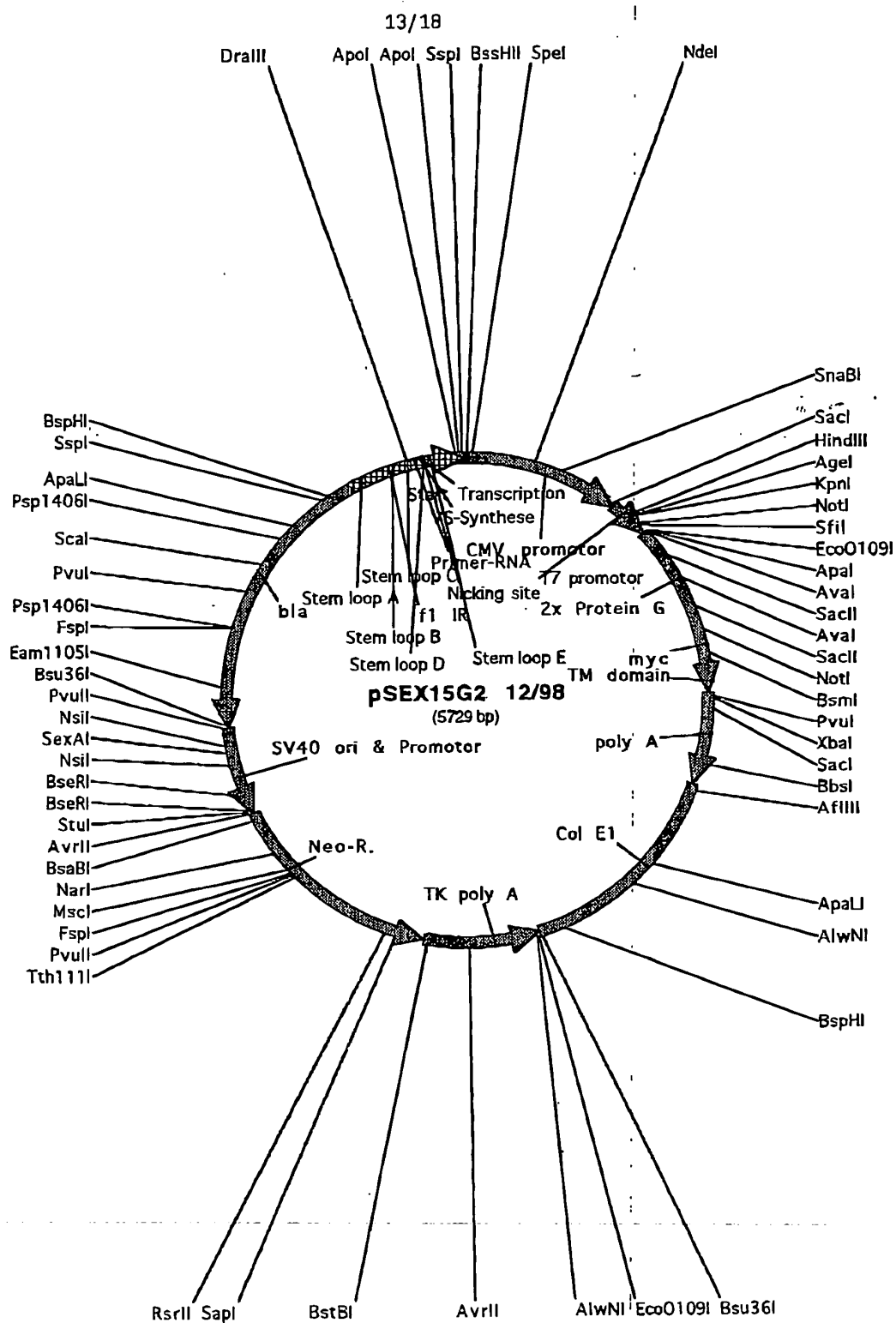


Fig. 3



14/18

BssHI SpeI  
 1 GCGCGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCA  
 57 TTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCC  
 113 GCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTT  
 169 CCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTACGG  
 NdeI  
 225 TAAACTGCCCACCTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTAT  
 CMV promotor  
 281 TGACGTCAATGACGGTAAATGGCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTAT  
 SnaBI  
 337 GGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTG  
 393 ATGCGGTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCAGGGGATT  
 449 TCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTGGCACAAAATCAAC  
 505 GGGACTTTCAAAATGTCGTAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGCGGGTAGG  
 SacI  
 561 CGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCTGGCTAACTAGAGAACCCAC  
 T7 promotor HindIII KpnI  
 617 TGCTTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCCCAAGCTTGGT  
 SfiI  
 AgeI NotI  
 673 ACCGGTGGATGGCACCCTGCATGCTGCTCTGCTGTGGCGGCCGCCCTGGCCCC  
 1 MetAlaProCysMetLeuLeuLeuLeuAlaAlaAlaLeuAlaPr  
 Apal  
 EcoO109I Aval  
 729 GACTCAGACCCGCGGGGCCCAAAAGCCCGAGGTGATCGATGCCAGCGAGCTGA  
 16 ThrGlnThrArgAlaGlyAlaGlnLysProGluValIleAspAlaSerGluLeuT  
 785 CCCCCGCGTGACCACTACAAGCTAGTGATCAACGGCAAGACCCCTGAAGGGCGAG  
 35 hrProAlaValThrThrTyrLysLeuValIleAsnGlyLysThrLeuLysGlyGlu  
 SacII  
 841 ACCACCACCGAGGCCGTGGACGCCGCCACCGCGGAGAAGGTGTTCAACAATACGC  
 54 ThrThrThrGluAlaValAspAlaAlaThrAlaGluLysValPheLysGlnTyrAl  
 897 TAATGACAACGGGTCGACGGCGAGTGGACTTACGACGACGCCACCAAGACCTTCA  
 72 AsnAspAsnGlyValAspGlyGluTrpThrTyrAspAspAlaThrLysThrPheT  
 Aval  
 2x Protein G  
 953 CCGTGACCGAGAAGCCCGAGGTGATCGATGCCAGCGAGCTGACCCCGCCGTGACC  
 91 hrValThrGluLysProGluValIleAspAlaSerGluLeuThrProAlaValThr  
 1009 ACCTACAAGCTAGTGATCAACGGCAAGACCCCTGAAGGGCGAGACCACCGAGGC  
 110 ThrTyrLysLeuValIleAsnGlyLysThrLeuLysGlyGluThrThrThrGluAl  
 SacII  
 1065 CGTGGACGCCGCCACCGCGGAGAAGGTGTTCAACAATACGCTAATGACAACGGGG  
 128 ValAspAlaAlaThrAlaGluLysValPheLysGlnTyrAlaAsnAspAsnGlyV

Fig. 3 (Forts. 1)

15/18

NotI  
1121 TCGACGGCGAGTGGACTTACGACGACGCCACCAAGACCTTACCCTGACCGAGGCG  
147► aIAspGIyGIuTrpThrTyrAspAspAlaThrLysThrPheThrValThrGIuAla  
myc  
1177 GCCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAATGGGCGCTCGACGAACA  
166► AlaAlaGIuGInLysLeuIleSerGIuGIuAspLeuAsnGIyAlaValAspGIuGI  
BsmI  
1233 AAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAATGCTGTGGGCCAGGACACGCAGGAGGTCA  
184► nLysLeuIleSerGIuGIuAspLeuAsnAlaValGIyGInAspThrGInGIuValI  
1289 TCGTGGTGCCACACTCCTTGCCCTTTAAGGTGGTGGTGATCTCAGCCATCCTGGCC  
203► IeValValProHisSerLeuProPheLysValValValIleSerAlaIleLeuAla  
TM domain  
1345 CTGGTGGTGCTCACCATCATCTCCCTTATCATCCTCATCATGCTTTGGCAGAAGAA  
222► LeuValValLeuThrIleIleSerLeuIleIleLeuIleMetLeuTrpGInLysLy  
PvuI XbaI  
1401 GCCACGTTCTGTCGGCCGATCGAGAATCCATCTAGAGCTATTCTATAGTGTACCTA  
240► sProArgSerSerAlaAspArgGIuSerIle\*\*\* ←  
SacI  
1457 AATGCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT  
poly A  
1513 TGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCC  
1569 TTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTATTCTATT  
BbsI  
1625 CTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAG  
1681 GCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGAACCACTGGCG  
AflIII  
1737 GTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGACATGTGAGCAAA  
1793 AGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGTTGCTGGCGTTTTTCCATA  
1849 GGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAGAAAATCGAGCTCAAGTCAAGGTGGCGA  
1905 AACCCGACAGGACTATAAAGATACCGGCTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCG  
1961 CTCTCCTGTTCCGACCTGCGGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGG  
2017 GAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTC  
ApaLI Col E1  
2073 GTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCAGAACCCCCGTTACGCCGACCGTGCGC  
2129 CTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCAC  
AlwNI  
2185 TGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACA  
2241 GAGTTCTTGAAGTGGTGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTAT  
2297 CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCG  
2353 GCAAAACAAACACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACG  
2409 CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTCTACGGGGTCTGACGC

Fig. 3 (Forts. 2)

16/18

BspHI

2465 TCAGTGGAAACGAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGA  
 2521 TCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATA

EcoO109I

Bsu36I      AlwNI

2577 TATGAGTAACCTGAGGCTATGGCAGGGCCTGCCGCCCCGACGTTGGCTGCGAGCCC  
 2633 TGGGCTTCACCCGAACTTGGGGGTGGGGTGGGGAAAAGGAAGAAACGCGGGCGT  
 2689 ATTGGCCCCAATGGGGTCTCGGTGGGTATCGACAGAGTGCCAGCCCTGGGACCGA

TK poly A

2745 ACCCCGCGTTTATGAACAAACGACCAACACCGTGCCTTTTATTCTGTCTTTTAT  
 2801 TGCCGTCATAGCGGGGTTCTTCCGGTATTGTCTCTTCCGTGTTTCAGTTAGCC

AvrII

2857 TCCCCCTAGGGTGGGCGAAGAACTCCAGCATGAGATCCCCGGCTGGAGGATCATC  
 2913 CAGCCGGCGTCCCGGAAAACGATTCCGAAGCCCAACCTTTCATAGAAGCGGCGGT

BstBI

2969 GGAATCGAAATCTCGTGATGGCAGGTTGGGCGTCGCTTGGTCGGTCATTTCAAGC  
 3025 CCAGAGTCCCGCTCAGAAGAACTCGTCAAGAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCG  
 2634 •••PhePheGluAspLeuLeuArgTyrPheAlaIleArgGlnSer  
 3081 AATCGGGAGCGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTGAGCCCAATCGCCGCCA  
 2484 rAspProAlaAlaIleGlyTyrLeuValLeuPheArgAspAlaTrpGluGlyL

SapI

3137 AGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAACGCTATGTCCTGATAGCGGTCCGCCAC  
 2294 euGluGluAlaIleAspArgThrAlaLeuAlaIleAspGlnTyrArgAspAlaVal  
 3193 ACCCAGCCGGCCACAGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCATTTCCACCATGATAT  
 2114 GlyLeuArgGlyCysAspIlePheGlySerPheArgGlyAsnGluValMetIleAs  
 3249 TCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCCTCGCGTCGGGCATGCTC  
 1924 nProLeuCysAlaAspGlyHisThrValValLeuAspGluGlyAspProMetSerA  
 3305 GCCTTGAGCCTGGCGAACAGTTCGGCTGGCGCGAGCCCTGATGCTCTTGATCATC  
 1734 lAlaLysLeuArgAlaPheLeuGluAlaProAlaLeuGlyGlnHisGluGlnAspAsp  
 3361 CTGATCGACAAGACCGGCTTCATCCGAGTACGTGCTCGCTCGATGCGATGTTTCG  
 1554 GlnAspValLeuGlyAlaGluMetArgThrArgAlaArgGluIleArgHisLysAla  
 3417 CTTGGTGGTCGAATGGGCAGGTAGCCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCGCATTGCA  
 1364 aGlnHisAspPheProCysThrAlaProAspLeuThrHisLeuArgArgMetAlaA  
 3473 TCAGCCATGATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGGAGATCCTG  
 1174 spAlaMetIleSerValLysGluAlaProAlaLeuHisSerSerLeuLeuAspGln

Tth111I

3529 CCCCAGCACTTCGCCCATAAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGTGACAACGTGCA  
 994 GlyProValGluGlyLeuLeuLeuTrpAspArgGlyAlaGluThrValValAspLe  
 Neo-R.

PvuII FspI      MscI

3585 GCACAGCTGCGCAAGGAACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCTCG  
 804 uValAlaAlaCysProValGlyThrThrAlaLeuTrpSerLeuArgAlaAlaGluA

NarI

3641 TCTTGAGTTTCAATCAGGGCACCGGACAGGTGGTCTTGACAAAAGAACCGGGCG  
 614 spGlnLeuGluAsnLeuAlaGlySerLeuAspThrLysValPheLeuValProArg  
 3697 CCCCTGCGCTGACAGCCGGAACACGGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGCTGTGTG  
 434 GlyGlnAlaSerLeuArgPheValAlaAlaAspSerCysGlyIleThrGlnGlnAla  
 3753 CCCAGTCATAGCCGAATAGCCTCTCCACCAAGCGGCGGAGAACCTGCGTGCAAT  
 244 aTrpAspTyrGlyPheLeuArgGluValTrpAlaAlaProSerGlyAlaHisLeuG

BsaBI

3809 CCATCTTGTCAATCATGCGAAACGATCCTCATCTGTCTCTTGATCGATCTTTGC  
 54 lAspGlnGluIleMet

StuI

AvrII      BseRI

3865 AAAAGCCTAGGCTCCAAAAAGCCTCCTCACTACTTCTGGAATAGCTCAGAGGCC

Fig. 3 (Forts. 3)

17/18

BseRI  
 3921 GACGAGGCGGCTCGGCTCTGCATAAATAAAAAAATTAGTCAGCCATGGGGCGG

---

SV40 ori & Promotor  
 3977 AGAATGGGCGGAAGTGGGCGGAGTTAGGGCGGGATGGGCGGAGTTAGGGCGGGA

---

NsiI  
 4033 CTATGGTTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCATACTTCTGCCTGCTGGGGAG

---

SexAI NsiI  
 4089 CCTGGGACTTTCCACACCTGGTTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCATACT

---

PvuII  
 4145 TCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTCCACACCCTAACTGACACACATTCCACA

---

Bsu36I  
 4201 GCTGGTTCTTTCCGCCTCAGGACTCTTCTTTTTCAATAAAATCAATCTAAAGTATA  
 4257 TATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTC  
 2874 •••TrpHisLysIleLeuSerAlaGlyIleGlu

---

Eam1105I  
 4313 AGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAA  
 2764 AlaIleGlnArgAsnArgGluAspMetThrAlaGlnSerGlyThrThrTyrIleVal  
 4369 CTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGGAGAC  
 2574 IValIleArgSerProLysGlyAspProGlyLeuAlaAlaIleIleGlyArgSerG  
 4425 CCACGCTCACCGGCTCCGATTATCAGCAATAAACCGCCAGCCGGAAGGGCCGA  
 2384 IArgGluGlyAlaGlySerLysAspAlaIlePheTrpGlyAlaProLeuAlaSer  
 4481 GCGCAGAAAGTGGTCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCC  
 2204 ArgLeuLeuProGlyAlaValLysAspAlaGluMetTrpAspIleLeuGlnGlnAr

---

FspI Psp1406I  
 4537 GGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCCAAGCTTGTGCCATT  
 2014 gSerAlaLeuThrLeuLeuGluGlyThrLeuLeuLysArgLeuThrThrAlaMetA  
 4593 GCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCTGTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGG  
 1824 IValIleProMetThrThrAspArgGluAspAsnProIleAlaGluAsnLeuGluPro  
 4649 TTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGTTA  
 1644 GluTrpArgAspLeuArgThrValHisAspGlyMetAsnHisLeuPheAlaThrLe

---

PvuII  
 4705 GCTCCTTCGGTCTCCGATCGTTGTGCAAGTAAGTTGGCCGAGTGTTATCACTC  
 1454 uGluLysProGlyGlyIleThrThrLeuLeuLeuAsnAlaAlaThrAsnAspSerM

---

bla  
 4761 ATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTTACTGTATGCCATCCGTAAGATGCTT  
 1264 etThrIleAlaAlaSerCysLeuGluArgValThrMetGlyAspThrLeuHisLys

---

ScaI  
 4817 TTCTGTGACTGGTGAAGTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGGGAC  
 1084 GluThrValProSerTyrGluValLeuAspAsnGlnSerTyrHisIleArgArgGlu  
 4873 CGAGTTGCTCTTGCCCGGCTCAATACGGGATAATACCGGCCACATAGCAGAACT  
 894 yLeuGlnGluGlnGlyAlaAspIleArgSerLeuValAlaGlyCysLeuLeuValL

---

Psp1406I  
 4929 TAAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCAAGGATCTT  
 704 ysPheThrSerMetMetProPheArgGluGluProArgPheSerGluLeuIleLys

---

ApaLI  
 4985 ACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGACCCCACTGATCTTCAG  
 524 GlySerAsnLeuAspLeuGluIleTyrGlyValArgAlaGlyLeuGlnAspGluAl  
 5041 CATCTTTTACTTTACCAAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCC  
 334 aAspLysValLysValLeuThrGluProHisAlaPheValProLeuCysPheAlaA  
 5097 GCAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATCTCTCTCTTTT  
 144 IAlaPhePheProIleLeuAlaValArgPheHisGlnIleSerMet

---

SspI BspHI  
 5153 TCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTG  
 5209 AATGTATTTAGAAAAATAACAAATAGGGGTTCCGCGCACTTTCECCGAAAAGTG  
 5265 CCACCTGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGTGTGGTGTACGCG

Fig. 3 (Forts. 4)

18/18

Stem loop A  
5321 CAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTCTTCC

5377 CTTCTTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTCCCGCTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTC

f1 IR Stem loop B  
5433 CCTTTAGGGTTCCGATTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTA

Dralll Stem loop C Primer-RNA  
5489 GGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGCGGTTTTTCGCCCTTTGA

Start Transcription  
VS-Synthese Nicking site Stem loop D Stem loop E  
5545 CGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTC

5601 AACCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCCTA

ApoI ApoI SspI  
5657 TTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAATAT

5713 TAACGCTTACAATTTAC

Fig. 3 (Forts. 5)

09/889182

JC18 Rec'd PCT/PTO 1 0 JUL 2001

1

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; Deutsches Krebsforschungszentrum

&lt;120&gt; Selektion von monoklonalen Antikörpern

&lt;130&gt; K 2779

&lt;140&gt; PCT/DE00/00079

&lt;141&gt; 2000-01-11

&lt;150&gt; DE 199 00 635.0-41

&lt;151&gt; 1999-01-11

&lt;160&gt; 6

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1.

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 5732

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (737) ... (1420)

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 1

```

gcgcgcgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag      60
ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaatggc cgccttggct      120
gaccgcccac cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc      180
caatagggac ttccattga cgtcaatggg tggactattht acggtaaaact gccactttgg      240
cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgcaccttat tgacgtcaat gacggtaaat      300
ggccgccttg gcattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca      360
tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc      420
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga      480
gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat      540
tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggtcta tataagcaga gctctctggc      600
taactagaga acccactget tactggetta tcgaaattaa tacgactcac tatagggaga      660
cccaagcttg gtaccgagct cggatccact agtaacggcc gccagtgtgc tgggaattcgg      720
-----
cttggggata tccacc atg gag aca gac aca ctc ctg cta tgg gta ctg      769
                Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu
                1                    5                      10

ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt gac tat cca tat gat gtt cca      817
Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly Asp Tyr Pro Tyr Asp Val Pro
                15                    20                      25

```

2

gat tat gct ggg gcc caa aag ccc gag gtg atc gat gcc agc gag ctg 865  
Asp Tyr Ala Gly Ala Gln Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu  
30 35 40

acc ccc gcc gtg acc acc tac aag cta gtg atc aac ggc aag acc ctg 913  
Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu  
45 50 55

aag ggc gag acc acc acc gag gcc gtg gac gcc gcc acc gcg gag aag 961  
Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys  
60 65 70 75

gtg ttc aaa caa tac gct aat gac aac ggg gtc gac ggc gag tgg act 1009  
Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp Thr  
80 85 90

tac gac gac gcc acc aag acc ttc acc gtg acc gag aag ccc gag gtg 1057  
Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr Val Thr Glu Lys Pro Glu Val  
95 100 105

atc gat gcc agc gag ctg acc ccc gcc gtg acc acc tac aag cta gtg 1105  
Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val  
110 115 120

atc aac ggc aag acc ctg aag ggc gag acc acc acc gag gcc gtg gac 1153  
Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp  
125 130 135

gcc gcc acc gtg gag aag gtg ttc aaa caa tac gct aat gac aac ggg 1201  
Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn Gly  
140 145 150 155

gtc gac ggc gag tgg act tac gac gac gcc acc aag acc ttc acc gtg 1249  
Val Asp Gly Glu Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr Val  
160 165 170

acc gag gcg gcc gca gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat 1297  
Thr Glu Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn  
175 180 185

ggg gcc gtc gac gga caa aac gac acc agc caa acc agc agc ccc tca 1345  
Gly Ala Val Asp Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser  
190 195 200

gca tcc agc aac ata agc gga ggc att ttc ctt ttc ttc gtg gcc aat 1393  
Ala Ser Ser Asn Ile Ser Gly Gly Ile Phe Leu Phe Phe Val Ala Asn  
205 210 215

gcc ata atc cac ctc ttc tgc ttc agt tgaggtgaca cgtctagagc 1440  
Ala Ile Ile His Leu Phe Cys Phe Ser  
220 225

tattctatag tctcacctaa atgctagagc tcgctgatca gcctcgactg tgccttctag 1500

ttgccagcca totgttgttt gccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg aaggtgccac 1560

tcccactgtc ctttcctaataaaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca 1620

ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag 1680

caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa ccagtggcgg 1740

taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc 1800

agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttctggc gtttttccat aggctccgcc 1860

cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac 1920

3

tataaagata ccaggcggttt ccccttgga gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc 1980  
tgccgcttac cggataacctg tccgccttcc tcccttcggg aagcgtggcg cttctccta 2040  
gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc 2100  
acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca 2160  
acccggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag 2220  
cgaggatagt aggcgggtgt acagagttct tgaagtggg gcctaactac ggctacacta 2280  
gaaggacagt atttgggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg 2340  
gtagctcttg atccggcaaa caaacaccg ctggtagcgg tgggtttttt gtttgcaagc 2400  
agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt 2460  
ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatctt ggtcatgaga ttatcaaaaa 2520  
ggatcttcac ctgatacctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat 2580  
atgagtaacc tgaggctatg gcagggcctg ccgccccgac gttggctgcg agccctgggc 2640  
cttcaccgga acttgggggg tgggggtggg aaaaggaaga aacgcggggc tattggcccc 2700  
aatggggtct cgggtgggta tcgacagagt gccagccctg ggaccgaacc ccgcgtttat 2760  
gaacaaacga cccaacaccg tgcgttttat tctgtctttt tattgcgctc atagcgcggg 2820  
ttccttcggt tattgtctcc ttccgtgttt cagttagcct cccctagggg tggggaaga 2880  
actccagcat gagatccccg cgctggagga tcatccagcc ggctccccg aaaacgattc 2940  
cgaagcccaa cctttcatag aaggcggcgg tggaaatcga atctcgtgat ggcagggttg 3000  
gcgtcgtctg gtgggtcatt tcgaacccca gagtcccgt cagaagaact cgtcaagaag 3060  
gcgatagaag gcgatgcgtc gcgaatcggg agcggcgata ccgtaaagca cgaggaagcg 3120  
gtcagcccat tcgccccaa gctcttcagc aatatcacgg gtagccaacg ctatgtcctg 3180  
atagcgggtc gccacaccca gccggccaca gtcgatgaat ccagaaaagc ggccattttc 3240  
caccatgata ttgggcaagc aggcacgcc atgggtcacg acgagatcct cgcgctcggg 3300  
catgctcgcc ttgagcctgg cgaacagttc ggctggcgcg agccctgat gctcttgatc 3360  
atcctgatcg acaagaccgg ctcccatccg agtacgtgct cgctcgatgc gatgtttcgc 3420  
ttggtggctg aatgggcagg tagccggatc aagcgtatgc agccgccgca ttgcatcagc 3480  
catgatggat actttctcgg caggagcaag gtgagatgac aggagatcct gccccggcac 3540  
ttcgccaat agcagccagt ccctcccgcc ttcagtgaac acgtcgagca cagctgcgca 3600  
aggaacgccc gtcgtggcca gccacgatag ccgcgctgcc tcgtcttgca gttcattcag 3660  
ggcaccggac aggtcgggtc tgacaataaag aaccggggcg cctcgcgctg acagccggaa 3720  
cacggcggca tcagagcagc cgattgtctg ttgtgcccag tcatagccga atagcctctc 3780  
caccgaagcg gccggagaac ctgcgtgcaa tccatcttgt tcaatcatgc gaaacgatcc 3840  
tcatcctgtc tcttgatcga tctttgcaaa agcctagggc tcaaaaaag cctcctcact 3900  
acttctggaa tagctcagag gccgaggagg cggcctcggc ctctgcataa ataaaaaaa 3960



4

ttagtcagcc atggggcgga gaatgggcgg aactgggcgg agttaggggc gggatgggcg 4020  
gagttagggg cgggactatg gttgctgact aattgagatg catgctttgc atacttctgc 4080  
ctgctgggga gcttggggac tttccacacc tgggtgctga ctaattgaga tgcattgctt 4140  
gcatacttct gcttgcctggg gagcctgggg actttccaca ccctaactga cacacattcc 4200  
acagctgggt ctttccgcct caggactctt cctttttcaa taaatcaatc taaagtatat 4260  
atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga 4320  
tctgtctatt tcgttcatcc atagtgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac 4380  
gggagggctt accatctggc ccagtgctg caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg 4440  
ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggctctg 4500  
caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgcg ggaagctaga gtaagtgtt 4560  
cgccagttaa tagtttgcg aacgttggtg ccattgctac aggcctcgtg gtgtcacgt 4620  
cgtcgtttgg tatgggttca ttcagctcgg gtccccaacg atcaaggcga gttacatgat 4680  
cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta 4740  
agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca 4800  
tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat 4860  
agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac 4920  
atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa 4980  
ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tcgtgcaccc aactgatctt 5040  
cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg 5100  
caaaaaaggg aataaggggc acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat 5160  
attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt 5220  
agaaaaataa acaaataggg gtccgcgca catttcccg aaaagtgcga cctgacgcgc 5280  
cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tgggtggttac gcgcagcgtg accgctacac 5340  
ttgccagcgc cctagcgcgc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 5400  
ccggttttcc ccgtcaagct ctaaatcggg ggtccctttt aggggttcga tttagtgtt 5460  
tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt aggggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 5520  
cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 5580  
tgttccaaac tggzaacaaca ctcaacccta tctcgggtcta ttcttttgat ttataaggga 5640  
ttttgccgat ttggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttacgcga 5700  
attttaacaa aatattaacg cttacaattt ac 5732

<210> 2,  
<211> 228  
<212> PRT  
<213> künstliche Sequenz

5

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 2

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15  
 Gly Ser Thr Gly Asp Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Ala  
 20 25 30  
 Gln Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pro Ala Val Thr  
 35 40 45  
 Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr  
 50 55 60  
 Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe Lys Gln Tyr  
 65 70 75 80  
 Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr  
 85 90 95  
 Lys Thr Phe Thr Val Thr Glu Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu  
 100 105 110  
 Leu Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr  
 115 120 125  
 Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu  
 130 135 140  
 Lys Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp  
 145 150 155 160  
 Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr Val Thr Glu Ala Ala Ala  
 165 170 175  
 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Val Asp Gly  
 180 185 190  
 Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Ser Ser Asn Ile  
 195 200 205  
 Ser Gly Gly Ile Phe Leu Phe Phe Val Ala Asn Ala Ile Ile His Leu  
 210 215 220  
 Phe Cys Phe Ser  
 225

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 6094

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (682) ... (1782)

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 3

gcgcgcgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag  
 60

6

ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattggc ccgcctgget	120
gaccgcccac cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtaggttccc atagtaacgc	180
caatagggac tttccattga cgtcaatggg tggactatgt acggtaaact gccacttgg	240
cagtacatca agtgtatcat atgccaaagta cgcacctat tgacgtcaat gacggtaa	300
ggccgcctg gcattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca	360
tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	420
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	480
gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaatg tcgtaacaac tccgccccat	540
tgacgcacaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagcaga gctctctggc	600
taactagaga acccactgct tactggctta tcgaaattaa tacgactcac tatagggaga	660
cccaagcttg gtaccgggtgc g atg gca ccc tgc atg ctg ctc ctg ctg ttg	711
Met Ala Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu	
1 5 10	
gcg gcc gcc ctg gcc ccg act cag acc cgc gcg ggg gcc caa aag gag	759
Ala Ala Ala Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Ala Gln Lys Glu	
15 20 25	
aag acc ccc gag gag ccc aag gag gag gtg acc atc aag gcc aac ctg	807
Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu	
30 35 40	
atc tac gcc gac ggc aag acc cag acc gcc gag ttc aag ggc acc ttc	855
Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe	
45 50 55	
gag gag gcc acc gcg gag gcc tac cgc tac gcc gac gcc ctg aag aag	903
Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys	
60 65 70	
gac aac ggc gag tac acc gtg gac gtg gcc gac aag ggc tac acc ctg	951
Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu	
75 80 85 90	
aac atc aag ttc gcc ggc aag gag aag acc ccc gag gag ccc aag gag	999
Asn Ile Lys Phe Ala Gly Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu	
95 100 105	
gag gtg acc atc aag gcc aac ctg atc tac gcc gac ggc aag acc cag	1047
Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln	
110 115 120	
acc gcc gag ttc aag ggc acc ttc gag gag gcc acc gcg gag gcc tac	1095
Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr	
125 130 135	
cgc tac gcc gac gcc ctg aag aag gac aac ggc gag tac acc gtg gac	1143
Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp	
140 145 150	
gtg gcc gac aag ggc tac acc ctg aac atc aag ttc gcc ggc aag gag	1191
Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly Lys Glu	
155 160 165 170	

7

aag acc ccc gag gag ccc aag gag gag gtg acc atc aag gcc aac ctg Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu 175 180 185	1239
atc tac gcc gac ggc aag acc cag acc gcc gag ttc aag ggc acc ttc Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe 190 195 200	1287
gag gag gcc acc gcg gag gcc tac cgc tac gcc gac gcc ctg aag aag Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys 205 210 215	1335
gac aac ggc gag tac acc gtg gac gtg gcc gac aag ggc tac acc ctg Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu 220 225 230	1383
aac atc aag ttc gcc ggc aag gag aag acc ccc gag gag ccc aag gag Asn Ile Lys Phe Ala Gly Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu 235 240 245 250	1431
gag gtg acc atc aag gcc aac ctg atc tac gcc gac ggc aag acc cag Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln 255 260 265	1479
acc gcc gag ttc aag ggc acc ttc gag gag gcc acc gcg gag gcc tac Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr 270 275 280	1527
cgc tac gcc gac gcc ctg aag aag gac aac ggc gag tac acc gtg gac Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp 285 290 295	1575
gtg gcc gac aag ggc tac acc ctg aac atc aag ttc gcc ggc gcg gcc Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly Ala Ala 300 305 310	1623
gca gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gtc gac Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Val Asp 315 320 325 330	1671
gga caa aac gac acc agc caa acc agc agc ccc tca gca tcc agc aac Gly Gln Asn Asp Thr Ser Gln Thr Ser Pro Ser Ala Ser Ser Asn 335 340 345	1719
ata agc gga ggc att ttc ctt ttc ttc gtg gcc aat gcc ata atc cac Ile Ser Gly Gly Ile Phe Leu Phe Phe Val Ala Asn Ala Ile Ile His 350 355 360	1767
ctc ttc tgc ttc agt tgagggtgaca cgtctagagc tattctatag tgtcacctaa Leu Phe Cys Phe Ser 365	1822
atgctagagc tgcgtgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt	1882
gcccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg aagggtccac tccactgtc ctttctaat	1942
aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtagggtgca ttctattctg gggggtggg	2002
tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcg	2062
tgggctctat ggcttctgag gcggaagaa ccagtggcgg taatacgggt atccacagaa	2122
tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt	2182
aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa	2242
aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac cegacaggac tataaagata ccaggcggtt	2302

8

ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttecgaccc tgcggettac cggataacctg 2362  
tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc 2422  
agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggetgtgtgc acgaaccccc cggtcagccc 2482  
gaccgctcgc ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta 2542  
tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatatgt aggcgggtgct 2602  
acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtate 2662  
tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtactctctg atccggcaaa 2722  
caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa 2782  
aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacgggggt ctgacgctca gtggaacgaa 2842  
aactcacgtt aagggaatctt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt 2902  
ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaacc tgaggctatg 2962  
gcaggggcctg ccgccccgac gttggctcgc agccctgggc cttcacccga acttgggggg 3022  
tgggggtggg aaaaggaaga aacgcgggcg tattggcccc aatgggggtct cgggtgggta 3082  
tcgacagagt gccagccctg ggaccgaacc ccgcgtttat gaacaaacga cccaacaccg 3142  
tgcgttttat tctgtctttt tattgccgtc atagcggggg ttccttcggg tattgtctcc 3202  
ttccgtgttt cagttagcct ccccttaggg tgggcgaaga actccagcat gagatccccg 3262  
cgctggagga tcatccagcc ggcgctccgg aaaacgattc cgaagccaa cctttcatag 3322  
aaggcggcgg tggaaatcgaa atctcgtgat ggcaggttgg gcgtcgcttg gtcggtcatt 3382  
tcgaacccca gagtcccgct cagaagaact cgtcaagaag gcgatagaag gcgatgcgt 3442  
gcgaatcggg agcggcgata ccgtaaagca cgaggaagcg gtcagcccat tcgccgcaa 3502  
gctcttcagc aatatacagg gtagccaacg ctatgtctcg atagcgggtc gccacaccca 3562  
gccggccaca gtgatgaat ccagaaaagc ggccattttc caccatgata ttcggcaagc 3622  
aggcatcgcc atgggtcacg acgagatcct ccgcgtcggg catgctcgcc ttgagcctgg 3682  
cgaacagttc ggtcggcgcg agccctgat gctcttgatc atcctgatcg acaagaccgg 3742  
cttccatccg agtacgtgct cgctcgatgc gatgtttcgc ttggtggtcg aatgggcagg 3802  
tagccggatc aagcgtatgc agccgcgcga ttgcatacgc catgatggat actttctcgg 3862  
caggagcaag gtgagatgac aggagatcct gccccggcac ttcgccaat agcagccagt 3922  
cccttcctgc tccagtgaac acgtcgagca cagctgcgca aggaacgccc gtcgtggcca 3982  
gccacgatag ccgcgctgcc tegtcttgca gttcattcag ggcaccggac aggtcggctt 4042  
tgacaaaaag aaccgggcgc cctgcgctg acagccggaa cccggcggca tcagagcagc 4102  
cgattgtctg ttgtgccag tcatagccga atagcctctc caccgaagcg gccggagaac 4162  
ctgcgtgcaa tccatcttgt tcaatcatgc gaaacgatcc tcatcctgtc tcttgatcga 4222  
tctctgcaaa agcctaggcc tccaaaaaag cctcctcact acttctggaa tagctcagag 4282  
gccgaggagg cggcctcggc ctctgcataa ataaaaaaa ttagtcagcc atggggcgga 4342

9

gaatgggcgg aactgggcgg agttaggggc gggatgggcg gagttagggg cgggactatg 4402  
gttctgact aattgagatg catgctttgc atacttctgc ctgctgggga gcctggggac 4462  
ttccacacc tgggtgctga ctaattgaga tgcattgctt gcatacttct gcctgctggg 4522  
gagcctgggg actttccaca ccctaactga cacacattcc acagctgggt cttcccgct 4582  
caggactctt ctttttcaa taaatcaatc taaagtatat atgagttaa atggtctgac 4642  
agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tctgtctacc 4702  
atagtgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc 4762  
cccagtgtg caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata 4822  
aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtgggtcctg caactttatc cgcctccatc 4882  
cagtctatta attgtgcg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgccg 4942  
aacgttggtt ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca 5002  
ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa 5062  
gggttagct ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta agttggcgc agtgttatca 5122  
ctcatggtta tggcagcact gcataattct ctactgtca tgccatccgt aagatgcttt 5182  
tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtea tcttgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt 5242  
tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagt 5302  
ctcatcattg gaaaacgttc tccggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga 5362  
tccagttcga tgtaaccac tctgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc 5422  
agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg 5482  
acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag cttttatcag 5542  
ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg 5602  
gttcgcgca cttttcccg aaaagtcca cctgacgcgc cctgtagcgg cgcattaagc 5662  
gcggcgggtg tgggtgttac gcgcagcgtg accgctacac ttgccagcgc cctagcgccc 5722  
gctcctttcg cttctctccc ttcctttctc gccagttcg ccggtttcc cgtcaagct 5782  
ctaaatcggg ggtccctttt aggtttcga tttagtgtt tacggcacct cgacccaaa 5842  
aaacttgatt aggtgatg ttcacgtagt gggccatcgc cctgatagac ggtttttcgc 5902  
cctttgacgt tggagtcac gttctttaat agtggactct tgttccaaac tggaacaaca 5962  
ctcaacccta tctcgggtcta tcttttgat ttataaggga ttttccgat ttcggcctat 6022  
tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa ttaacgcga attttaacaa aatattaacg 6082  
cttacaattt ac 6094

<210> 4  
<211> 367  
<212> PRT  
<213> künstliche Sequenz

10

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 4

```

Met Ala Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ala Pro
 1              5              10              15

Thr Gln Thr Arg Ala Gly Ala Gln Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro
      20              25              30

Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys
      35              40              45

Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu
      50              55              60

Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr
      65              70              75              80

Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly
      85              90              95

Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala
      100             105             110

Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly
      115             120             125

Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu
      130             135             140

Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr
      145             150             155             160

Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro
      165             170             175

Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys
      180             185             190

Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu
      195             200             205

Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr
      210             215             220

Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly
      225             230             235             240

Lys Glu Lys Thr Pro Glu Glu Pro Lys Glu Glu Val Thr Ile Lys Ala
      245             250             255

Asn Leu Ile Tyr Ala Asp Gly Lys Thr Gln Thr Ala Glu Phe Lys Gly
      260             265             270

Thr Phe Glu Glu Ala Thr Ala Glu Ala Tyr Arg Tyr Ala Asp Ala Leu
      275             280             285

Lys Lys Asp Asn Gly Glu Tyr Thr Val Asp Val Ala Asp Lys Gly Tyr
      290             295             300

Thr Leu Asn Ile Lys Phe Ala Gly Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile
      305             310             315             320

Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Val Asp Gly Gln Asn Asp Thr Ser
      325             330             335

```

11

Gln Thr Ser Ser Pro Ser Ala Ser Ser Asn Ile Ser Gly Gly Ile Phe  
 340 345 350  
 Leu Phe Phe Val Ala Asn Ala Ile Ile His Leu Phe Cys Phe Ser  
 355 360 365

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 5729

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (682) ... (1431)

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 5

gcgcgcgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag 60  
 ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattgg ccgcctggct 120  
 gaccgcccac cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtagtctccc atagtaacgc 180  
 caatagggac ttccattga cgtcaatggg tggactatct acggtaaaact gccactttgg 240  
 cagtacatca agtgtatcat atgccaaagta cgtcccttat tgacgtcaat gacggtaaat 300  
 ggcccgcctg gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca 360  
 tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc 420  
 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga 480  
 gtttggtttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat 540  
 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagcaga gctctctggc 600  
 taactagaga accactgct tactggctta tcgaaattaa tacgactcac tatagggaga 660  
 cccaagcttg gtaccggtgc g atg gca ccc tgc atg ctg ctg ctg ctg ttg 711  
 Met Ala Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10  
 gcg gcc gcc ctg gcc ccg act cag acc cgc gcg ggg gcc caa aag ccc 759  
 Ala Ala Ala Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Ala Gln Lys Pro  
 15 20 25  
 gag gtg atc gat gcc agc gag ctg acc ccc gcc gtg acc acc tac aag 807  
 Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys  
 30 35 40  
 cta gtg atc aac ggc aag acc ctg aag ggc gag acc acc acc gag gcc 855  
 Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala  
 45 50 55  
 gtg gac gcc gcc acc gcg gag aag gtg ttc aaa caa tac gct aat gac 903  
 Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp  
 60 65 70  
 aac ggg gtc gac gcc gag tgg act tac gac gac gcc acc aag acc ttc 951  
 Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe  
 75 80 85 90



12

acc gtg acc gag aag ccc gag gtg atc gat gcc agc gag ctg acc ccc Thr Val Thr Glu Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pro 95 100 105	999
gcc gtg acc acc tac aag cta gtg atc aac ggc aag acc ctg aag ggc Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly 110 115 120	1047
gag acc acc acc gag gcc gtg gac gcc gcc acc gcg gag aag gtg ttc Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe 125 130 135	1095
aaa caa tac gct aat gac aac ggg gtc gac ggc gag tgg act tac gac Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp Thr Tyr Asp 140 145 150	1143
gac gcc acc aag acc ttc acc gtg acc gag gcg gcc gca gaa caa aaa Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr Val Thr Glu Ala Ala Glu Gln Lys 155 160 165 170	1191
ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gtc gac gaa caa aaa ctc Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Val Asp Glu Gln Lys Leu 175 180 185	1239
atc tca gaa gag gat ctg aat gct gtg ggc cag gac acg cag gag gtc Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ala Val Gly Gln Asp Thr Gln Glu Val 190 195 200	1287
atc gtg gtg cca cac tcc ttg ccc ttt aag gtg gtg gtg atc tca gcc Ile Val Val Pro His Ser Leu Pro Phe Lys Val Val Val Ile Ser Ala 205 210 215	1335
atc ctg gcc ctg gtg gtg ctc acc atc atc tcc ctt atc atc ctc atc Ile Leu Ala Leu Val Val Leu Thr Ile Ile Ser Leu Ile Ile Leu Ile 220 225 230	1383
atg ctt tgg cag aag aag cca cgt tgc tgc gcc gat cga gaa tcc atc Met Leu Trp Gln Lys Lys Pro Arg Ser Ser Ala Asp Arg Glu Ser Ile 235 240 245 250	1431
tagagctatt ctatagtgtc acctaaatgc tagagctcgc tgatcagcct cgactgtgcc	1491
ttctagtgtc cagccatctg ttgtttgcc ctccecggtg ccttcttga ccttggaagg	1551
tgcactccc actgtccttt cctaataaaa tgaggaaatt gcatcgcat gtctgagtag	1611
gtgtcattct attctggggg gtggggtggg gcaggacagc aagggggagg attgggaaga	1671
caatagcagg catgctgggg atgcggtggg ctctatggct tctgaggcgg aaagaaccag	1731
tgggcgtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa	1791
aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgctt ttccataggc	1851
tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagagggtg cgaaaccga	1911
caggactata aagataaccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc	1971
cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt	2031
ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct	2091
gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg	2151
agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta	2211
gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct	2271

13

acactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa	2331
gagttggttag ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtggg ttttttgttt	2391
gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atctttctta	2451
cggggtctga cgctcagtg aacgaaaact cagcttaagg gattttgggc atgagattat	2511
caaaaaggat ctccacctag atccttttaa attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa	2571
gtatatatga gtaacctgag gctatggcag ggccctgccg cccgacgttg gctgcgagcc	2631
ctgggccttc accggaactt ggggggtggg gtggggaaaa ggaagaaacg cggggtgatt	2691
ggccccaatg ggggtctcggg ggggtatcga cagagtgcga gccctgggac cgaacccgc	2751
gtttatgaac aaacgaccca acaccgtgcg ttttattctg tttttttatt gccgtcatag	2811
cgcgggttcc ttccggtatt gtctccttcc ggttttcagt tagcctcccc ctagggtggg	2871
cgaagaactc cagcatgaga tccccgcgt ggaggatcat ccagccggcg tcccggaaaa	2931
cgattccgaa gcccaacctt tcatagaagg cggcgggtgga atcgaaatct cgtgatggca	2991
ggttgggctg cgcttggtcg gtcatttcga accccagagt cccgctcaga agaactcgtc	3051
aagaaggcga tagaaggcga tgcgctgcga atcgggagcg gcgataccgt aaagcacgag	3111
gaagcggtea gcccatctgc cgccaagctc ttcagcaata tcacgggtag ccaacgtat	3171
gtcctgatag cggtecgcca caccagccg gccacagtcg atgaatccag aaaagcggcc	3231
attttccacc atgatattcg gcaagcagc atcgccatgg gtcacgacga gatcctcgcc	3291
gtcgggcatg ctgccttga gcctggcgaa cagttcggct ggcgcgagcc cctgatgctc	3351
ttgatcatcc tgatcgacaa gaccggcttc catccgagta cgtgctcgct cgatgcgatg	3411
tttcgcttgg tggtcgaatg ggcaggtagc cggatcaagc gtatgcagcc gccgcattgc	3471
atcagccatg atggatactt tctcggcagg agcaagggtga gatgacagga gatcctgccc	3531
cggcacttcg cccaatagca gccagtcctt tcccgttca gtgacaacgt cgagcacagc	3591
tgcgcaagga acgcccgtcg tggccagcca cgatagccgc gctgcctcgt cttgcagttc	3651
attcaggcca cgggacaggt cggctttgac aaaaagaacc gggcgccctt gcgctgacag	3711
ccggaacacg ggggcatcag agcagccgat tgtctgttgt gccagtcac agccgaatag	3771
cctctccacc caagcggcgc gagaacctgc gtgcaatcca tcttgttcaa tcatgcgaaa	3831
cgatcctcat cctgtctctt gatcgatctt tgcaaaagcc taggcctcca aaaaagcctc	3891
ctcactactt ctggaatage tcagaggccg aggaggcggc ctcgccctct gcataaataa	3951
aaaaaatag tagccatgg ggcggagaat gggcggaact gggcggtgtt aggggaggga	4011
tgggcggagt tagggggggg actatggttg ctgactaatt gagatgcag ctttgcatat	4071
ttctgcctgc tggggagcct ggggacttcc cacacctggg tgctgactaa ttgagatgca	4131
tgctttgcat acttctgctt gctggggagc ctggggactt tccacacct aactgacaca	4191
cattccacag ctgggtcttt ccgcctcagg actcttcctt tttcaataaa tcaatctaaa	4251
gtatatatga gtaaaccttg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct	4311

14

cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgectgact ccccgctctg tagataacta 4371  
 cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgca gacccacgct 4431  
 caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg 4491  
 gtccctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa 4551  
 gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt 4611  
 cagcgtctgc gtctggtatg gcttcattca gctccgggtc ccaacgatca aggcgagtta 4671  
 catgatcccc catgtttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggctcctcg atcgttgtca 4731  
 gaagtaagtt ggcgcgagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta 4791  
 ctgtcatgcc atccgtaaga tgctttcttg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct 4851  
 gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataatacgg 4911  
 cgccacatag cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaaac 4971  
 tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact 5031  
 gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaaca ggaaggcaaa 5091  
 atgccgcaaa aaaggggaata agggcgacac ggaatatgtg aatactcata ctcttctctt 5151  
 ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat 5211  
 gtatttagaa aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg 5271  
 acgcgccttg tagcggcgca ttaagcgagg cgggtgtggt ggttacgcgc agcgtgaccg 5331  
 ctacacttgc cagcgcccta ggcggcgtc ctttcgcttt ctccctctcc tttctcgcca 5391  
 cgttcgcccgg ctttccccgt caagctctaa atcggggggt ccttttaggg ttccgattta 5451  
 gtgctttacg gcacctcgac ccaaaaaaac ttgattaggg tgatggttca cgtagtgggc 5511  
 catcgccctg atagacgggt tttcgccctt tgacgttga gtccacgttc tttaatagt 5571  
 gactcttgtt ccaaaactga acaactca accctatctc ggtctattct ttgatttat 5631  
 aagggatttt gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga gctgatttaa caaaaattta 5691  
 acgcgaattt taacaaaata ttaacgctta caatttac 5729

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 250

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Antikörper-Bindeprotein

&lt;400&gt; 6

Met Ala Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ala Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Gln Thr Arg Ala Gly Ala Gln Lys Pro Glu Val Ile Asp Ala Ser  
 20 25 30

15

Glu Leu Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys Leu Val Ile Asn Gly Lys  
35 40 45  
Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala  
50 55 60  
Glu Lys Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn Gly Val Asp Gly Glu  
65 70 75 80  
Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr Val Thr Glu Lys Pro  
85 90 95  
Glu Val Ile Asp Ala Ser Glu Leu Thr Pro Ala Val Thr Thr Tyr Lys  
100 105 110  
Leu Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Glu Ala  
115 120 125  
Val Asp Ala Ala Thr Ala Glu Lys Val Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp  
130 135 140  
Asn Gly Val Asp Gly Glu Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe  
145 150 155 160  
Thr Val Thr Glu Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp  
165 170 175  
Leu Asn Gly Ala Val Asp Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu  
180 185 190  
Asn Ala Val Gly Gln Asp Thr Gln Glu Val Ile Val Val Pro His Ser  
195 200 205  
Leu Pro Phe Lys Val Val Val Ile Ser Ala Ile Leu Ala Leu Val Val  
210 215 220  
Leu Thr Ile Ile Ser Leu Ile Ile Leu Ile Met Leu Trp Gln Lys Lys  
225 230 235 240  
Pro Arg Ser Ser Ala Asp Arg Glu Ser Ile  
245 250


# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:		<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> <b>Huber &amp; Schübler</b>  <b>Patentanwälte</b>  <b>26. APR. 2001</b>  <b>Frist: .....</b> </div>		<div style="text-align: center;"> <h2>PCT</h2> <p>MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNGSBERICHTS (Regel 71.1 PCT)</p> </div>	
SCHÜBLER, Andrea, Truderinger Str. 246, D-81825, München ALLEMAGNE					
Absendedatum (Tag/Monat/Jahr)		25.04.2001			
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2779 - sch/msl		<b>WICHTIGE MITTEILUNG</b>			
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/1999			
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.					

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiernit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.
4. **ERINNERUNG**  
 Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).  
  
 Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.  
  
 Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde


 Europäisches Patentamt  
 D-80298 München  
 Tel. +49 89 23399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
 Fax: +49 89/23399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Büchler, S

Tel. +49 89 23399-8090



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2779 - sch/msl	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 11/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/06		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
Diese Anlagen umfassen insgesamt 3 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  04/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  25.04.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523658 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Wimmer, G Tel. Nr. +49 89 2399 7347 

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der Bestandteile der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17):*  
**Beschreibung, Seiten:**

1-16                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-20                      mit Telefax vom                      05/04/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/18-18/18                      ursprüngliche Fassung

**Sequenzprotokoll In der Beschreibung, Seiten:**

1-15 (SEQ ID NOS. 1-6), in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**Internationales Aktenzeichen **PCT/DE00/00079**

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- |  |         |
|--|---------|
| <input type="checkbox"/> Beschreibung, | Seiten: |
| <input type="checkbox"/> Ansprüche,    | Nr.:    |
| <input type="checkbox"/> Zeichnungen,  | Blatt:  |

- 5.
- ☐
- Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung****1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	16-20
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	16-20
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-20
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt**



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Art. 35(2) PCT hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung.**

- 1) Im Anschluß wird auf folgende Dokumente Bezug genommen (die Reihenfolge der Dokumente entspricht der Reihenfolge ihrer Auflistung im Internationalen Recherchenbericht):

D1: EP-A-0 028 902 (BIO RESPONSE INC) 20. Mai 1981 (1981-05-20)

D2: WO 90 00625 A (MONOCLONETICS INT ;WARRINGTON RICHARD E (US)) 25. Januar 1990 (1990-01-25)

**Neuheit unter Art. 33(2) PCT.**

- 2) Gegenstand des Anspruches 1 ist ein Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern, wobei die Antikörper mittels eines Antikörper-Bindeproteins auf der Oberfläche der Hybridomzellen präsentiert werden, und wobei diese Bindeproteine über die Myelomzellen oder durch Expressionsvektoren in die Hybridomzellen eingebracht werden.

Dokumente D1 und D2 beschreiben die Fusion von Myeloma- und B-Zellen zur Produktion von Antikörpern, wobei erfindungsgemäße Antikörper-Bindeproteine nicht verwendet werden. Obwohl für die Hybridomzellen von D1 und D2 die Expression der natürlichen "Antikörper-Bindeproteine" CD16 und CD32 zu erwarten ist, werden diese in den Methoden von D1 und D2 weder über Expressionsvektoren, noch über die Myelomzellen eingebracht, sondern sind durch die natürliche Expression in B-Zellen vorhanden.

Somit kann der Gegenstand von Anspruch 1 als neu anerkannt werden.  
Infolgedessen sind auch die abhängigen Ansprüche 2-14 als neu anzusehen.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079

- 3) Ebenso sind solche Antikörper-Bindeproteine selbst, sowie dafür kodierende DNA im Stand der Technik nicht beschrieben. Anspruch 15 ist somit neu.
- 4) Jedoch ist der angestrebte Schutzbereich von Anspruch 16 nicht klar beschrieben. Das Merkmal "durch eine oder mehrere Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuresequenz" läßt eine weite Interpretation zu, nachdem eine Beschränkung dieser Variation, z.B. entsprechend jener der Beschreibung, im Anspruch nicht enthalten ist. Das minimale Vorhandensein der in Anspruch 15 genannten Domänen stellt keine eindeutige Beschränkung dieser Variationen dar, da durch jegliche Variation innerhalb einer dieser Domänen das variante Protein nicht mehr unter Anspruch 15 fiel.
- 5) Entsprechendes gilt auch für Anspruch 17. Auch hier erlaubt die Formulierung "durch ein oder mehrere Basenpaare unterscheidende DNA", ohne weitere Beschränkung, keine genaue Bestimmung des angestrebten Schutzbereiches. Infolgedessen kann für Ansprüche 16 und 17 Neuheit nicht anerkannt werden.
- 6) Neuheit der Ansprüche 18-19 kann nur nach Wiederherstellung der Neuheit von Anspruch 17 anerkannt werden.
- 7) Wie in Abschnitt V.5 beschrieben, können die durch Anspruch 16 definierten Proteine nicht als neu anerkannt werden. Entsprechend können auch Antikörper gemäß Anspruch 20, welche gegen solche Proteine gerichtet sind, nicht als neu gelten.  
Weiters ist zu bemerken, daß auch bei ausreichend klarer Definition der Proteine von Anspruch 16 die Neuheit der Antikörper gegen solche Proteine fraglich ist, da auch bekannte Antikörper gegen z.B. das Maus-Ig-Kappa - Signalpeptid mit einem Fusionsprotein, welches eine solche Kette beinhaltet, binden würden.

Erfinderische Tätigkeit unter Art. 33(3) PCT.

- 8) Herstellung von Antikörpern mittels Fusionierung von Myeloma- und B-Zellen ist im Stand der Technik ausgiebig beschrieben. Darüber hinaus wird in Dokument D2 eine Methode zur Präselektion Antikörper-produzierender B-Zellen durch Nutzung der Oberflächenpräsentation der Antikörper erwähnt.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00079

Das der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende technische Problem bestand somit in einer Modifikation der Oberflächenpräsentation, die darüber hinaus die Selektion gewünschter Antikörper produzierender Zellen nach der Fusionierung ermöglicht.

Während die Verwendung Antikörper-bindender Oberflächenproteine aus Dokument D2 abgeleitet werden könnte, ist jedoch auf kein spezifisches Protein für eine solche Anwendung hingewiesen. Insbesondere existiert im Stand der Technik kein Hinweis auf erfindungsgemäß konstruierte Proteine, welche durch Expression in Hybridomzellen deren spezifische Selektion erlauben.

Somit kann ein erfinderischer Schritt für Ansprüche 1-19 anerkannt werden, soweit das Kriterium der Neuheit für diese Ansprüche gilt bzw. wiederhergestellt werden kann.

K 2779

Patentansprüche

1. Verfahren zur Selektion von monoklonalen Antikörpern, umfassend die Fusion von B-Lymphozyten mit Myelomzellen zu Antikörper-produzierenden Hybridomzellen, wobei die Antikörper auf der Zelloberfläche der Hybridomzellen mittels eines Antikörper-Bindeproteins präsentiert werden, und die Bindung der Antikörper an Antigene, wobei die Antikörper-Bindeproteine über die Myelomzellen in die Hybridomzellen oder über sie kodierende Expressionsvektoren in die Hybridomzellen eingefügt werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Antikörper-Bindeprotein ein Signalpeptid, eine von der Spezifität des Antikörpers unabhängige Antikörper-Bindestelle und einen Membrananker umfaßt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein ein Fc-Bindeprotein oder Teile davon umfaßt.
4. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus Fc-Bindeproteinen oder Teilen davon umfaßt.
5. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, wobei das Fc-Bindeprotein CD16, CD32 oder CD64 ist.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 - 5, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Antikörper-Bindungsdomäne der Proteine A, G, L oder LG umfaßt.
7. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus dem Signalpeptid einer Maus-Ig-Kappa-Kette oder eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, einer Antikörper-Bindestelle der Proteine A, G, L oder LG und der Transmembran-Domäne von PDGFR oder CD52 umfaßt.

2

8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das Antikörper-Bindeprotein jenes von Fig. 1, Fig. 2 oder Fig. 3 ist.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-8, wobei die Hybridomzellen Rag1 und/oder Rag2 (über)exprimieren.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-9, wobei die Antigene von einer Antigen-Bibliothek stammen.
- 10 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-10, wobei die Antigene an einen Träger gebunden sind.
12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei der Träger Magnetobeads umfaßt.
- 15 13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-10, wobei die Antigene eine Fluoreszenz- oder Biotinmarkierung umfassen.
14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die Fluoreszenzmarkierung FITC, TRITC, Cy3, Cy5, Cy5.5, Cy7 und Phycoerythrin umfaßt.
- 20 15. Antikörper-Bindeprotein, wobei das Antikörper-Bindeprotein eine Kombination aus dem Signalpeptid einer Maus-Ig-Kappa-Kette oder eines Maus-MHC-Klasse I k(k)-Moleküls, einer Antikörper-Bindestelle der Proteine A, G, L oder LG und der Transmembran-Domäne von PDGFR oder CD52 umfaßt.
- 25 16. Antikörper-Bindeprotein nach Anspruch 15, wobei das Antikörper-Bindeprotein die Aminosäuresequenz von Fig. 1, Fig. 2 bzw. Fig. 3 oder eine hiervon durch ein oder mehrere Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuresequenz umfaßt.
- 30 17. DNA, kodierend für das Antikörper-Bindeprotein nach Anspruch 16, umfassend:
  - 35 (a) die DNA eines Antikörper-Bindeproteins der Figuren 1, 2 bzw. 3, eine sich hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterscheidende DNA, oder

3

(b) eine mit der DNA von (a) über den degenerierten Code verwandte DNA.

5 18. Expressionsvektor, kodierend für die DNA nach Anspruch 17.

19. Zellen, enthaltend den Expressionsvektor nach Anspruch 18.

10 20. Antikörper, gerichtet gegen das Antikörper-Bindeprotein nach Anspruch 16.

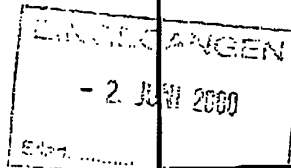
# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

**PCT**

An  
HUBER & SCHÜSSLER  
Z.H. HUBER, Bernard  
Truderinger Str. 246  
D-81825 München

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG



(Regel 44.1 PCT)

29.7.2001

Absendeterminum  
(Tag/Monat/Jahr) 29/05/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

K 2779 - hu/ms

WEITERES VORGEHEN

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/00079

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

11/01/2000

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

**Wo sind Änderungen einzureichen?**Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,  
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2a) übermittelt wird.

3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. Weiteres Vorgehen: Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90<sup>ter</sup> bzw. 90<sup>ter</sup> 3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5816 Patentlaan 2  
NL-2260 HW Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Nina Vercio

## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen. Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

### HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

#### Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

#### Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

#### Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

#### In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu nummerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu nummerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

#### Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

##### Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.



## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:  
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:  
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:  
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:  
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

### "Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

### Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 52.2 a), erster Satz).

### Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>K 2779 - hu/msl</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/00079</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>11/01/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>11/01/1999</b>
Anmelder <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.  
☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

- Grundlage des Berichts
  - Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
    - ☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
  - Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
    - ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
    - ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
    - ☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
    - ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
    - ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
    - ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.
- ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
- ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
- Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:
- Hinsichtlich der **Zusammenfassung**
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut nach Regel 33.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.
- Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_
  - ☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen
  - ☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat
  - ☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet

☒ keine der Abb.

## INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

 Internat. Aktenzeichen  
 PCT/DE 00/00079

<b>A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 C12N15/06 C12N5/20 C07K19/00 C12N15/62 C12N15/79 C12N5/10 C07K16/18		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C12N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 028 902 A (BIO RESPONSE INC) 20. Mai 1981 (1981-05-20) Seite 5, Zeile 7 -Seite 6, Zeile 29 Seite 8, Zeile 10 -Seite 10, Zeile 13 Ansprüche	1-20
A	WO 90 00625 A (MONOCLONETICS INT ;WARRINGTON RICHARD E (US)) 25. Januar 1990 (1990-01-25) Seite 5, Zeile 6 -Seite 6, Zeile 2 Ansprüche	1-20
A	WO 97 08186 A (INVITROGEN CORP) 6. März 1997 (1997-03-06) Seite 13, Zeile 15 -Seite 14, Zeile 10 Seite 15, Zeile 9 -Seite 16, Zeile 10 Ansprüche 1,20,30	1-20
<input type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
22. Mai 2000		29/05/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Covone, M

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die in der Patentfamilie gehören

Internat. Aktenzeichen

PCT/DE 00/00079

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0028902	A	20-05-1981	AU 538128 B 02-08-1984
			AU 6401280 A 07-05-1981
			CA 1149738 A 12-07-1983
			DE 3063363 D 07-07-1983
			JP 56085287 A 11-07-1981
			ZA 8006506 A 30-09-1981
WO 9000625	A	25-01-1990	KEINE
WO 9708186	A	06-03-1997	US 6017754 A 25-01-2000
			AU 713352 B 02-12-1999
			AU 7253196 A 19-03-1997
			CA 2202907 A 06-03-1997
			EP 0788508 A 13-08-1997